



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internat. Patentklassifikation⁶ : A61K 31/40</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/33578 (43) Internat. Veröffentlichungsdatum: 18. September 1997 (18.09.97)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE97/00486 (22) Internationales Anmeldedatum: 11. März 1997 (11.03.97) (30) Prioritätsdaten: 196 09 454.2 11. März 1996 (11.03.96) DE (71)(72) Anmelder und Erfinder: HOERRMANN, Wilhelm [DE/DE]; Staltacherstrasse 34, D-82393 Iffeldorf (DE). (74) Anwälte: VOSSIUS, Volker usw.; Holbeinstrasse 5, D-81679 München (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ARIPO Patent (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p>
<p>(54) Title: COMBINATION OF CIS-4-HYDROXY-L-PROLINE AND N-METHYL-CIS-4-HYDROXY-L-PROLINE FOR USE AS A THERAPEUTIC AGENT, IN PARTICULAR IN CANCER TREATMENT (54) Bezeichnung: KOMBINATION AUS CIS-4-HYDROXY-L-PROLIN UND N-METHYL-CIS-4-HYDROXY-L-PROLIN ZUR ANWENDUNG ALS THERAPEUTISCHER WIRKSTOFF INSBESONDERE FÜR DIE KREBSTHERAPIE (57) Abstract The disclosure relates to a combination of cis-4-hydroxy-L-proline and n-methyl-cis-4-hydroxy-l-proline for use as a therapeutic agent, in particular in cancer treatment. Also disclosed is the use of the individual substances for treating hormone-sensitive prostate cancer. (57) Zusammenfassung Beschrieben ist eine Kombination aus cis-4-Hydroxy-L-prolin und N-Methyl-cis-4-hydroxy-L-prolin zur Verwendung als therapeutischer Wirkstoff insbesondere für die Krebstherapie. Beschrieben ist ferner die Verwendung der Einzelsubstanzen für die Therapie des h rmonsensitiven Prostatakarzinoms.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

5

10

Kombination aus cis-4-Hydroxy-L-prolin und N-Methyl-cis-4-hydroxy-L-prolin zur Anwendung als therapeutischer Wirkstoff insbesondere für die Krebstherapie

15

Priorität: 11. März 1996, Deutschland, Akz.. 196 09 454.2

Einleitung

20

Die Erfindung betrifft eine Arzneistoff-Kombination, die als wesentliche Komponenten cis-4-Hydroxy-L-prolin (A) und N-Methyl-cis-4-hydroxy-L-prolin (B), oder ihre pharmakologisch verträglichen Derivate enthält, zur Anwendung als therapeutischer Wirkstoff, insbesondere für die Krebstherapie des Menschen. Die Erfindung betrifft ferner Arzneimittelzusammensetzungen, die diese Kombination enthalten, und ihre Verwendung. Die

25 Erfindung betrifft auch Verfahren zur Behandlung von Patienten mit der Kombination, die an Krebs erkrankt sind. Schließlich betrifft die Erfindung die Verwendung der Einzelkomponenten für die Therapie des hormonsensitiven Prostatakarzinoms.

Technischer Hintergrund

30

Aus der DE-Patentschrift 35 38 619 ist die Verwendung von cis-4-Hydroxy-L-prolin bei der Behandlung von Karzinomen und verwandten Tumoren bekannt. Ferner ist aus der EP-B-0 223 850 die Verwendung von N-Methyl-cis-4-hydroxyprolin und N-Methyl-trans-4-hydroxyprolin bei der Behandlung von Astrocytomzellen bekannt. In dieser Patentschrift

35 werden diese Derivate von Hydroxyprolin und Prolin sowohl in verschiedener Konfiguration, OH- Positionierung und Alkylierung genannt. Ferner ist in Cancer Detection and Prevention, Vol. 11, Nr. ½, 1987, Seite 66, ein Abstract Nr. 2:046, W. Hoerrmann et al., „Differential

- 5 effects of cis-4-hydroxy-L-proline (CHP) and methyl-cis-4-hydroxy-L-proline (mcHP) on tumour cells: Evidence for redifferentiation and cell growth inhibition", veröffentlicht worden.

Die Erfindung

- 10 Es wurde nun überraschenderweise gefunden, daß die Kombination der Komponenten (A) und (B), d.h. cis-4-Hydroxy-L-prolin und N-Methyl-cis-4-hydroxy-L-prolin, eine wertvolle Arzneistoff-Kombination ist, die sich insbesondere zur Therapie von Tumoren eignet. In der Zellkultur von Tumorzellen kann diese antitumoröse Wirkung in besonders klarer Weise nachgewiesen werden, da sie zu einer signifikanten Hemmung der
- 15 Zellproliferation führt. Die Tumorzellen werden dabei in einem üblichen Kulturmedium mit unterschiedlichen Konzentrationen von 1 bis 100 µg/ml der Kombination im Molverhältnis 1:1 über einen Zeitraum von 6 bis 10 Tagen behandelt. Zu bestimmten Zeiten wird die Zellzahl bestimmt. Die Abnahme der Zellzahl bzw. die Hemmung der Zellproliferation ist ein wichtiges Indiz für einen mit der Kombination therapierbaren Tumor.

20

- Die erfindungsgemäße Kombination enthält die Komponenten (A) und (B) in der Regel in einem eine synergistische Wirkung erzeugenden Molverhältnis, vorzugsweise in einem Bereich von 10:1 bis 1:10 und besonders bevorzugt in einem Molverhältnis von 1:1. Beide Komponenten sind untoxisch mit einer akuten bzw. subakuten Toxizität von höher als
- 25 10.000 mg pro kg. Beide Komponenten erwiesen sich im Ames-Test als nicht mutagen.

- Spezielle Beispiele für therapierbare Tumoren, deren Zellen bei der Behandlung mit der erfindungsgemäßen Kombination einer Hemmung der Zellproliferation zeigten, sind Nierenkarzinome, Harnblasenkarzinome, Prostatakarzinome, Mammakarzinome, Hirntumore
- 30 und Fibrosarkome. Typische humane Tumorzelllinien zum Testen der erfindungsgemäßen Kombination können von verschiedenen Kultursammlungen, z.B. der Zellkultursammlung des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) in Heidelberg von der American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, Maryland, U.S.A., und der European Collection of Cell Cultures (ECACC), Centre for Applied Microbiology and Research, Salisbury, Wiltshire,
- 35 England, bezogen werden.

Die Beispiele erläutern die Erfindung. Sie sind nicht einschränkend aufzufassen.

5

Beispiele : Versuche zur Hemmung der Zellproliferation

Für die Versuche zur Bestimmung der Hemmung der Zellproliferation mit der Kombination der Erfindung wurden folgende bekannte Zelllinien humaner Herkunft verwendet. Diese Versuche wurden insofern nicht an in Nacktmäuse implantierte Tumoren durchgeführt, da die chemische Natur der Komponenten (A) und (B) eine Verstoffwechselung durch den tierischen Organismus möglich erscheinen läßt und damit die Gefahr falsch-negativer Resultate gegeben ist.

1. **Nierenkarzinomzellen**

15

KTCTL2: Es handelt sich um eine Nierenkarzinomzelllinie des DKFZ Heidelberg. KTCTL2-Zellen besitzen maligne Eigenschaften, bilden Tumore in Nacktmäusen, Kolonien im Weichgar und wachsen in Zellkultur stark adhärent auf der Unterlage.

20

SK Nep: Diese Zelllinie des DKFZ wurde ebenfalls aus einem Nierenzellkarzinom etabliert. DK Nep-Zellen bilden ebenso wie KTCTL2-Zellen Tumore in Nacktmäusen und Kolonien im Weichgar. Sie weisen aber morphologisch in Zellkultur einen höher malignen Phänotyp auf, da sie offenbar spontan kleine Aggregate bilden und fast unabhängig von der Adhärenz auf einer Unterlage ohne Kontakthemmung übereinanderwachsen.

25

Diese zwei Zelllinien wurden gewählt, da sie in vitro zunehmend maligne Eigenschaften aufweisen.

30 2. **Harnblasenkarzinomzellen**

RT-4: Diese Zelllinie stammt aus einem hochdifferenzierten papillären Harnblasenkarzinom (Grad 1) eines Mannes. Diese Zelllinie wächst stark adhäsionsabhängig.

35

J82: Diese Zelllinie stammt aus einem völlig verwilderten, gering differenzierten Harnblasenkarzinom (Grad 3).

5 3. Prostatakarzinomzellen

PC-3: Eine Zelllinie aus einem progredienten, hormonresistenten Prostatakarzinom. Sie ist hochgradig tumorig in Nacktmäusen und bildet Kolonien in Weichagar.

10 LNCaP: Zelllinie aus einer Lymphknotenmetastase eines hormonsensitiven, mittelgradig differenzierten Prostatakarzinoms.

Mammakarzinomzellen: Es wurde die Zelllinie MCF 7 verwendet; sie ist oestrogensensitiv.

15

Fibrosarkomzellen: Es wurde die Zelllinie HT 1080 verwendet.

Hirntumorzellen: Es wurden die Zelllinien HTZ-122 und HTZ-17 verwendet. Bei der Zelllinie HTZ-122 handelt es sich um ein niedrig malignes Astrocytom (WHO Grad I), bei der Zelllinie HTZ-17 um einen hochmalignen astrocytären Tumor (Glioblastoma multiforme, WHO Grad IV).

20

Es wurden mit diesen Zelllinien folgende Behandlungsversuche durchgeführt:

25

1. Es wurde die Substanz (A) cis-4-Hydroxy-L-prolin in verschiedenen Konzentrationen allein eingesetzt.
2. Es wurde die Substanz (B) N-Methyl-cis-4-hydroxy-L-prolin in verschiedenen Konzentrationen allein eingesetzt.
3. Es wurde die Kombination (K) aus (A) und (B) im Molverhältnis 1:1 in verschiedenen Konzentrationen eingesetzt.

30

35 Das Ergebnis aller dieser Versuche ist den beigefügten graphischen Darstellungen zu entnehmen, aus denen auch die jeweiligen Zellzahlen, die Versuchsdauer in Tagen und die verwendeten Konzentrationen ersichtlich sind.

5 Diese graphischen Darstellungen werden nachfolgend erläutert:

Bei der Nierenkarzinom-Zelllinie KTCTL2 haben die Einzelsubstanzen (A) und (B) keine Wirkung. Dagegen führt die Kombination (K) aus beiden Substanzen zu einer signifikanten und dosisabhängigen Wachstumshemmung von ca. 25%. Siehe graphische
10 Darstellung Figuren 1 bis 4. Die Kombination zeigt somit eine echte kooperative (synergistische) Hemmung der Zellproliferation bei KTCTL2 Zellen, die allein durch keine der beiden Substanzen erzielt werden kann.

Im Gegensatz dazu fanden sich bei SK Nep, die einen besonders malignen Phänotyp
15 aufweist, für (A), (B) und (K) keine Wirkung.

Beeindruckend ist der sehr starke kooperative (synergistische) Effekt der Kombination (K) auf die Zelllinie RT-4 aus einem papillären Harnblasenkarzinom eines Mannes. In der Konzentration von 100 µg/ml zeigen die Einzelsubstanzen praktisch keinen Effekt, in der
20 Kombination (K) dagegen eine drastische Hemmung der Zellproliferation. Siehe Figuren 5 bis 7.

Bei dem völlig verwilderten, gering differenzierten Harnblasenkarzinom J 82 zeigten die Einzelsubstanzen (A) und (B) keine, die Kombination (K) eine mäßige Wirkung. Siehe
25 Figuren 8 bis 10.

Bei der hormonsensitiven Prostatakarzinom-Zelllinie LNCaP findet sich eine signifikante Hemmung der Zellproliferation sowohl für die Einzelsubstanz (A) als auch (B), noch stärker aber für die Kombination (K). Siehe Figuren 11 bis 13.

30

Dagegen findet sich bei der hormonresistenten Prostatakarzinom-Zelllinie PC 3 sowohl für die Einzelsubstanz (A) und (B) als auch für die Kombination (K) nur eine schwache Wirkung. Siehe 14 bis 16.

35 Das unterschiedliche Verhalten dieser beiden Prostatakarzinom-Zelllinien beweist die hohe Spezifität der eingesetzten Verbindungen.

5 Bei der oestrogensensitiven Mammakarzinom-Zelllinie MCF 7 zeigen sowohl die Einzelsubstanzen (A) und (B) als auch die Kombination (K) eine Hemmung bis zu 50%, aber nur für die Kombination konnte gezeigt werden, daß dieser Effekt dosisabhängig ist. Siehe Figuren 17 bis 19.

10 Bei der Fibrosarkom-Zelllinie HT 1080 zeigt bereits die Einzelsubstanz (A) eine starke Wirkung, für (B) war die Kurve nicht auswertbar, die Kombination (K) zeigt eine hervorragende Wirkung mit einer dosisabhängigen Hemmung der Zellproliferation von mehr als 90%. Siehe Figuren 20 bis 21.

15 Bei der Hirntumor-Zelllinie HTZ 122 sind die Einzelsubstanzen (A) und (B) sowie die Kombination (K) wirksam, die Kombination (K) aber am stärksten mit einer Hemmung um ca. 66%. Dabei ist dieser Effekt dosisabhängig. Siehe Figuren 22 bis 24.

20 Bei der hochmalignen Hirntumor-Zelllinie HTZ 17 ist bereits die Einzelsubstanz (A) hervorragend wirksam, die Einzelsubstanz (B) nur sehr gering wirksam, die Kombination (K) erreicht eine Hemmung von ca. 75%. Siehe Figuren 25 bis 27.

Arzneimittel und Therapie

25 Arzneimittelzusammensetzungen, die eine Kombination der Erfindung enthalten, können nach an sich bekannten Methoden hergestellt werden. Verwiesen wird auf das Buch „Remington's Pharmaceutical Sciences“, 18. Auflage, 1990, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, U.S.A., insbesondere Teil 6, Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture. Die Einzelsubstanzen sind durch chemische Synthese oder im Handel erhältlich.

30 Die Zusammensetzungen können zur oralen oder parenteralen, insbesondere intravenösen Applikation mit üblichen Hilfsstoffen formuliert werden. Zur Behandlung des Harnblasenkarzinoms kommt auch die intravesikale (transurethrale) Applikation in Frage. In diesem Fall wird die Kombination in Form einer verdünnten wäßrigen Lösung verabfolgt.

35 Die Dosis hängt von der Schwere der Erkrankung ab. Die Kombination der Erfindung kann in einer Einzeldosis von 0,01 bis 0,1 g pro kg Körpergewicht einmal oder mehrmals täglich appliziert werden.

5 Die erfindungsgemäßen Arzneimittel können die Komponenten (A) und (B) auch in Form von pharmakologisch verträglichen Abkömmlingen oder Vorläufern enthalten. Hier sind zu nennen: Alkalisalze, Erdalkalisalze, Säureadditionssalze, Ester, Amide, Säuredamide und Äther der genannten Verbindungen, Dehydroprolin und N-Alkyl- bzw. N-Methyl-Derivate des Dehydroprolins und ihre entsprechenden Keto-Verbindungen.

10

15

20

25

30

35

5

Patentansprüche

1. Kombination aus cis-4-Hydroxy-L-prolin als Komponente (A) und N-Methyl-cis-4-hydroxy-L-prolin als Komponente (B), oder ihre pharmakologisch verträglichen Derivate in einem eine synergistische Wirkung erzeugenden Molverhältnis zur
10 Anwendung als therapeutischer Wirkstoff.
2. Kombination nach Anspruch 1 im Molverhältnis der Komponenten (A) und (B) von 10:1 bis 1:10.
- 15 3. Kombination nach Anspruch 1 im Molverhältnis der Komponenten (A) und (B) von 1:1.
4. Kombination nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Anwendung bei der Therapie von Tumoren.
- 20 5. Kombination nach Anspruch 4 zur Anwendung bei der Therapie des Harnblasenkarzinoms.
6. Kombination nach Anspruch 4 zur Anwendung bei der Therapie des hormonsensitiven Prostatakarzinoms.
- 25 7. Kombination nach Anspruch 4 zur Anwendung bei der Therapie des Nierenkarzinoms.
8. Kombination nach Anspruch 4 zur Anwendung bei der Therapie des hormonsensitiven
30 Mammakarzinoms.
9. Kombination nach Anspruch 4 zur Anwendung bei der Therapie des Fibrosarkoms.
10. Kombination nach Anspruch 4 zur Anwendung bei der Therapie von Hirntumoren.
- 35 11. Arzneimittel, enthaltend eine Kombination aus cis-4-Hydroxy-L-prolin als Komponente (A) und N-Methyl-cis-4-hydroxy-L-prolin als Komponente (B), oder

- 5 ihre pharmakologisch verträglichen Derivate in einem bei der Hemmung der Zellproliferation von Tumorzellen eine synergistische Wirkung erzeugenden Molverhältnis.
12. Arzneimittel nach Anspruch 10, enthaltend die Komponenten (A) und (B) im
10 Molverhältnis 10:1 bis 1:10.
13. Arzneimittel nach Anspruch 10, enthaltend die Komponenten (A) und (B) im Molverhältnis 1:1.
- 15 14. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 11 bis 13 zur Anwendung bei der Therapie von menschlichen Tumoren.
15. Arzneimittel nach Anspruch 14 zur Anwendung bei der Therapie des Harnblasenkarzinoms.
20
16. Arzneimittel nach Anspruch 14 zur Anwendung bei der Therapie des hormonsensitiven Prostatakarzinoms.
17. Arzneimittel nach Anspruch 14 zur Anwendung bei der Therapie des
25 Nierenkarzinoms.
18. Arzneimittel nach Anspruch 13 zur Anwendung bei der Therapie des hormonsensitiven Mammakarzinoms.
- 30 19. Arzneimittel nach Anspruch 14 zur Anwendung bei der Therapie des Fibrosarkoms.
20. Arzneimittel nach Anspruch 14 zur Anwendung bei der Therapie von Hirntumoren.
21. Verwendung einer Kombination aus cis-4-Hydroxy-L-prolin als Komponente (A) und
35 N-Methyl-cis-4-hydroxy-L-prolin als Komponente (B), oder ihrer pharmakologisch verträglichen Derivate in einem eine synergistische Wirkung erzeugenden

- 5 Molverhältnis zur Herstellung einer Arzneimittelzusammensetzung für die Therapie von Tumoren.
22. Verwendung nach Anspruch 21 zur Herstellung einer Arzneimittelzusammensetzung für die Therapie des Harnblasenkarzinoms.
- 10 23. Verwendung nach Anspruch 21 zur Herstellung einer Arzneimittelzusammensetzung für die Therapie des hormonsensitiven Prostatakarzinoms.
24. Verwendung nach Anspruch 21 zur Herstellung einer Arzneimittelzusammensetzung für die Therapie des Nierenkarzinoms.
- 15 25. Verwendung nach Anspruch 21 zur Herstellung einer Arzneimittelzusammensetzung für die Therapie des hormonsensitiven Mammakarzinoms.
- 20 26. Verwendung nach Anspruch 21 zur Herstellung einer Arzneimittelzusammensetzung für die Therapie des Fibrosarkoms.
27. Verwendung nach Anspruch 21 zur Herstellung einer Arzneimittelzusammensetzung für die Therapie von Hirntumoren.
- 25 28. Verwendung nach einem der Ansprüche 21 bis 27, wobei das Molverhältnis der Komponenten (A) und (B) 10:1 bis 1:10, insbesondere 1:1 beträgt.
29. Verwendung von cis-4-Hydroxy-L-prolin oder N-Methyl-cis-4-hydroxy-L-prolin, oder
30 ihres pharmakologisch verträglichen Derivats zur Herstellung einer Arzneimittelzusammensetzung für die Therapie des hormonsensitiven Prostatakarzinoms.
- 35

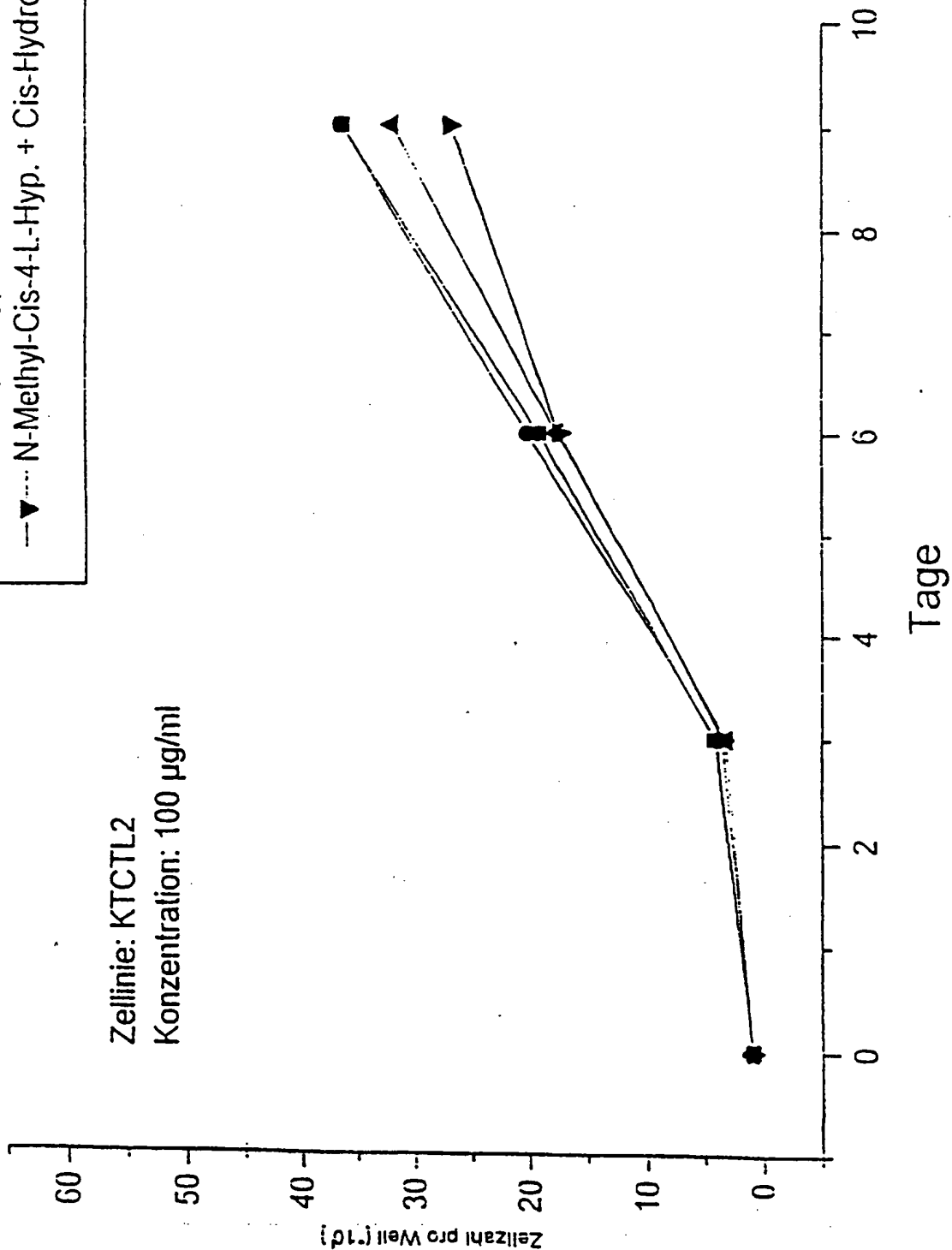
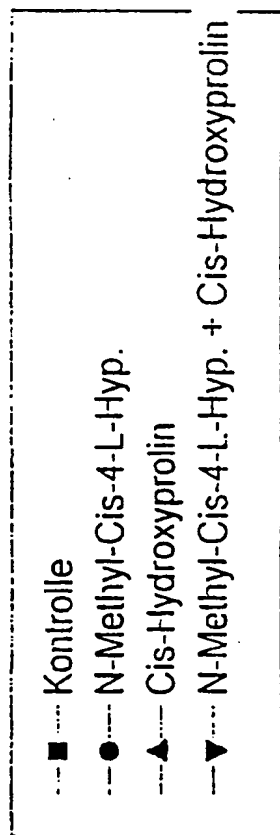
1 / 27

Fig. 1

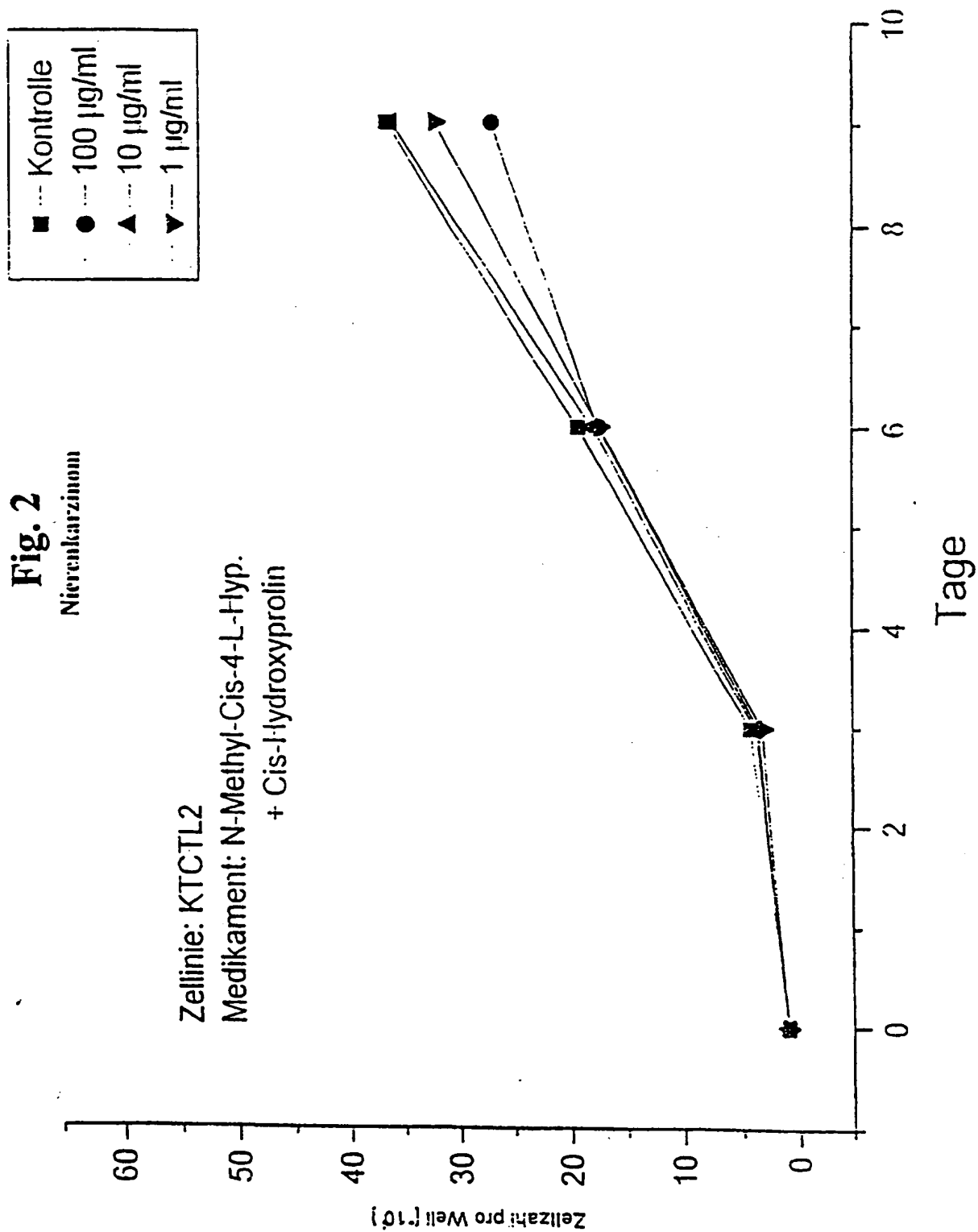
Nierenkarzinom

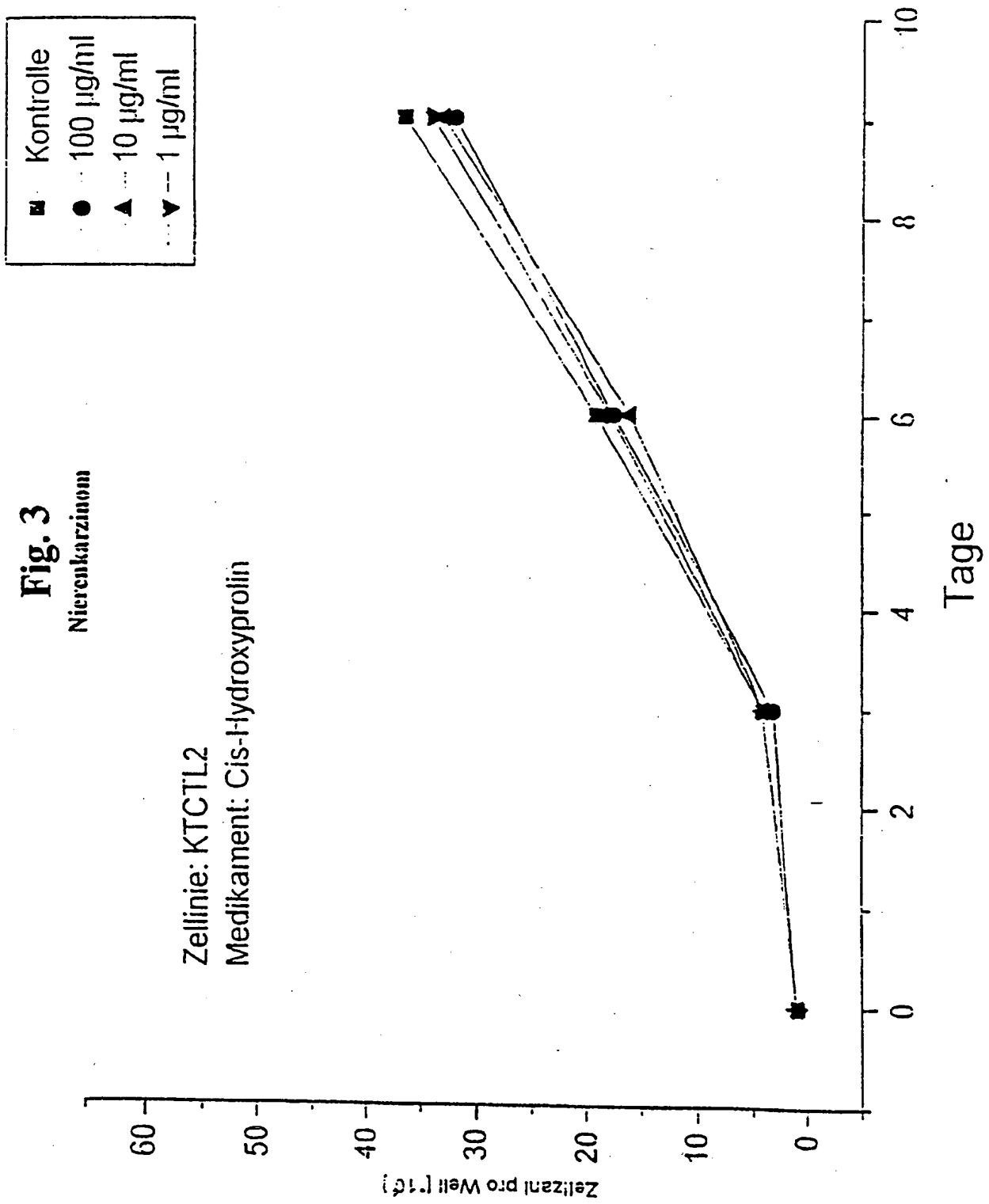
Zelllinie: KTCTL2

Konzentration: 100 µg/ml



2 / 27

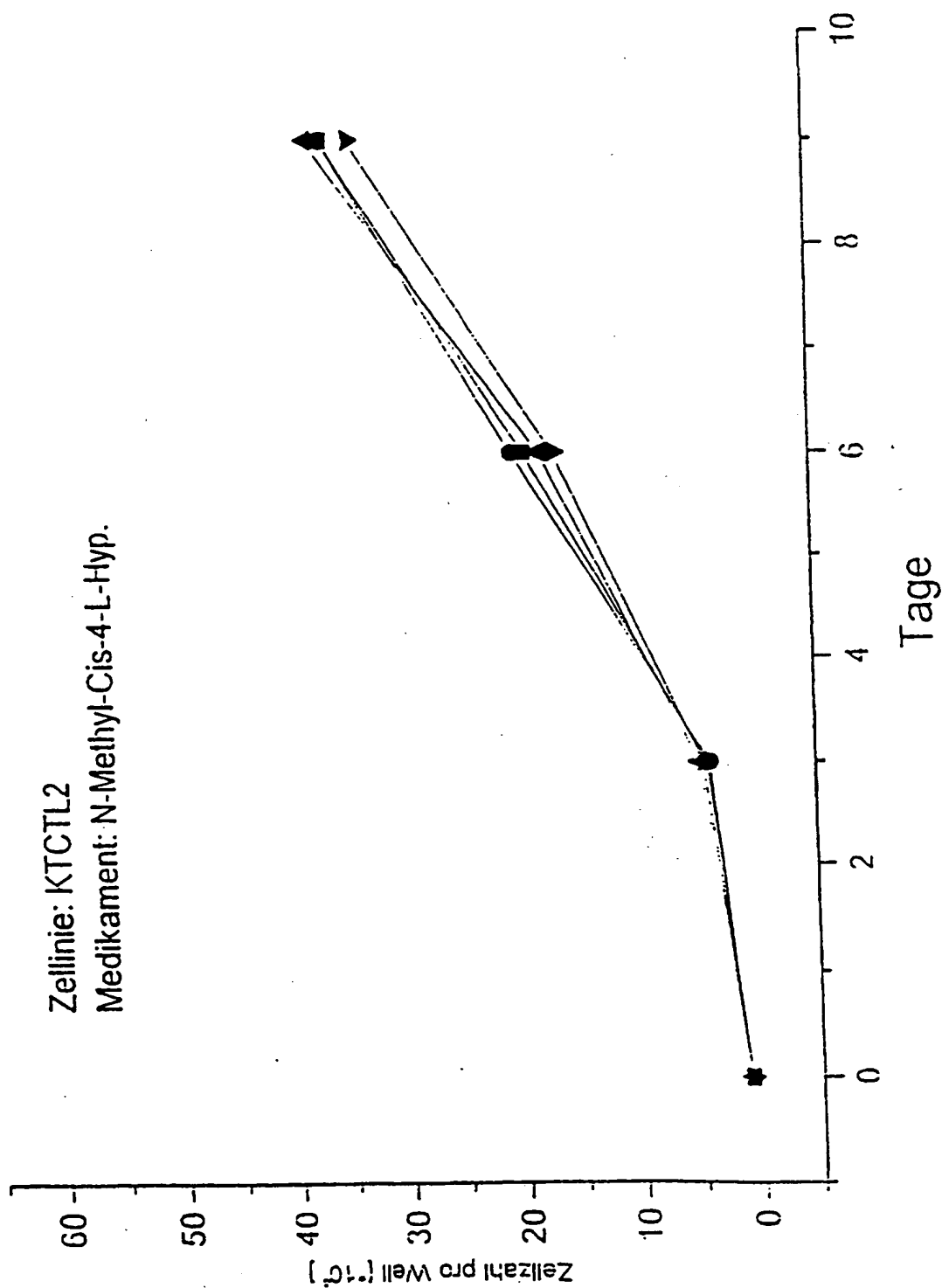




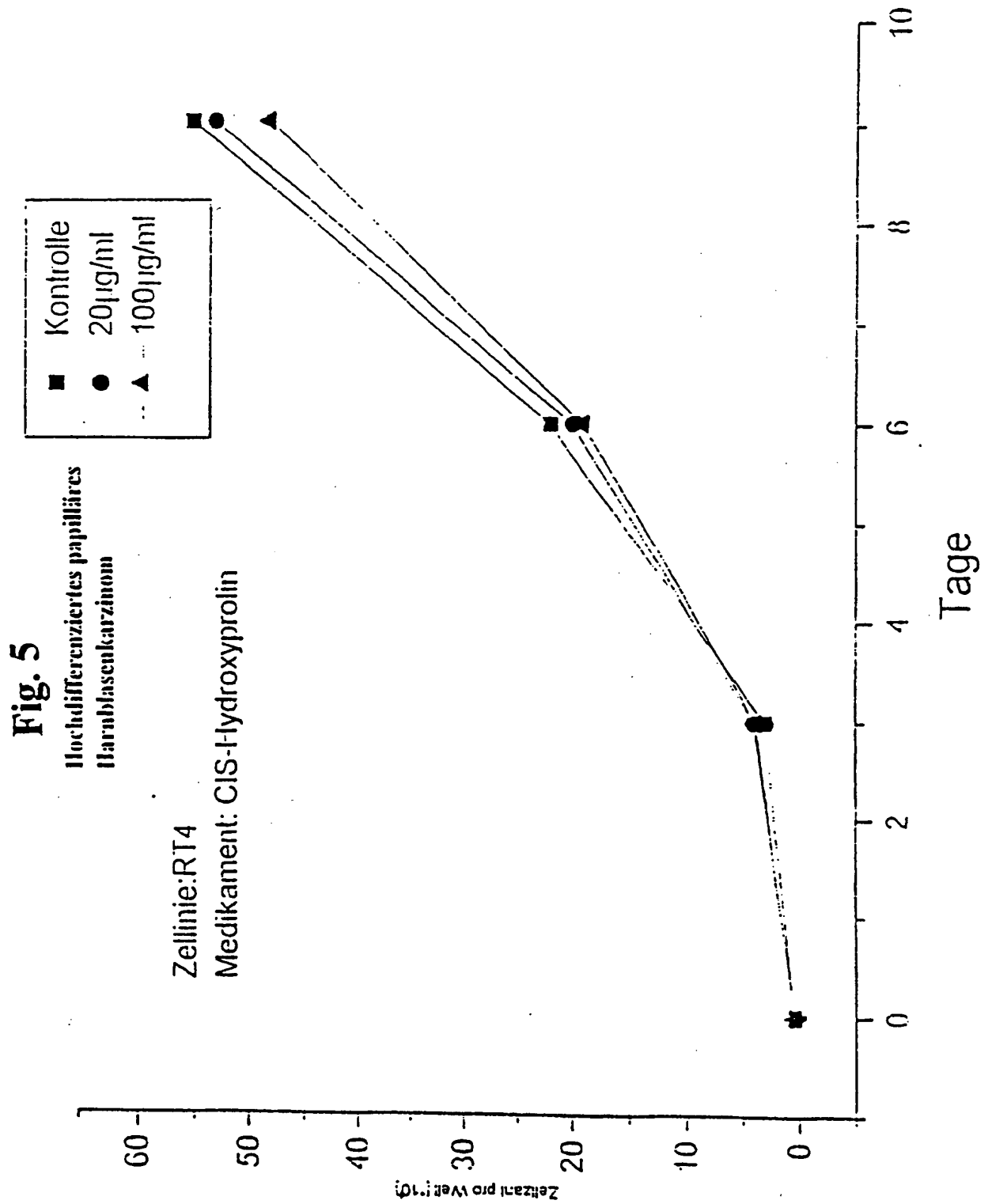
4 / 27

Fig. 4
Nierenkarzinom

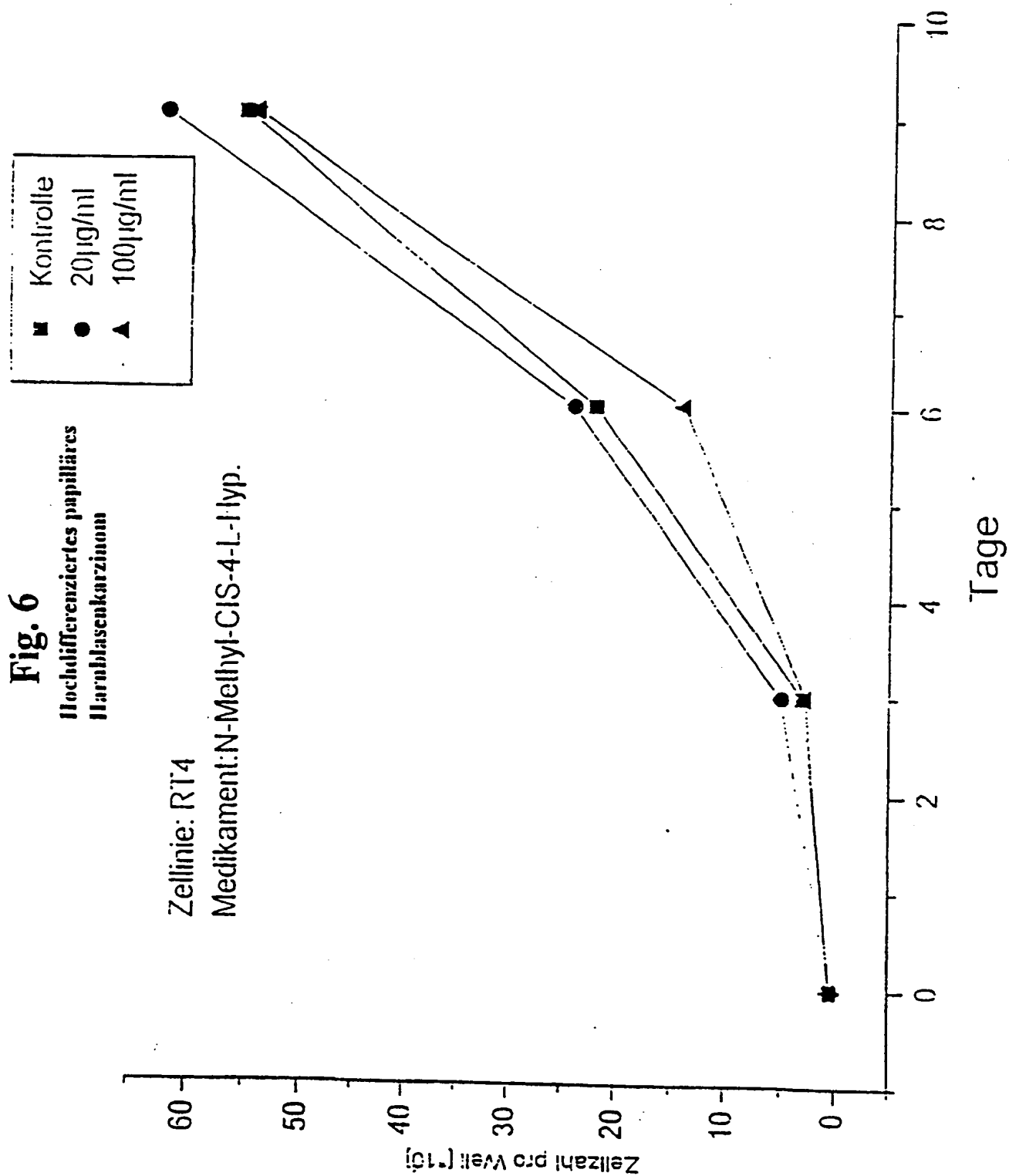
Zelllinie: KTCTL2
Medikament: N-Methyl-Cis-4-L-Hyp.



5 / 27



6/27



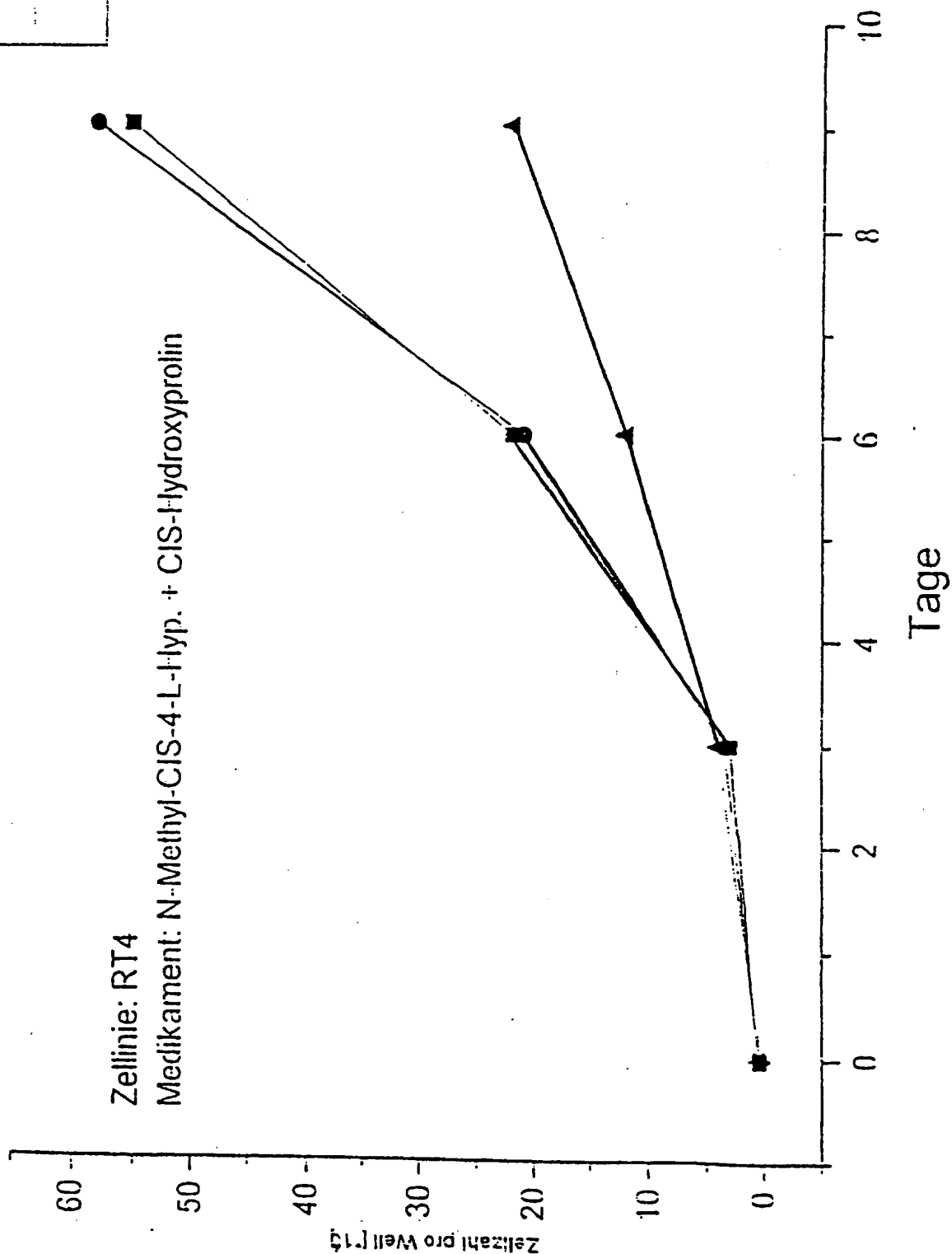
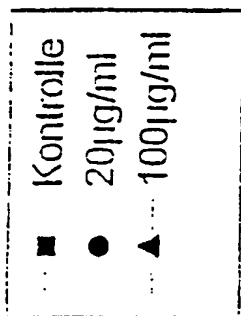
7 / 27

Fig. 7

Hochdifferenziertes papilläres
Harnblasenkarzinom

Zelllinie: RT4

Medikament: N-Methyl-CIS-4-L-Hyp. + CIS-Hydroxyprolin

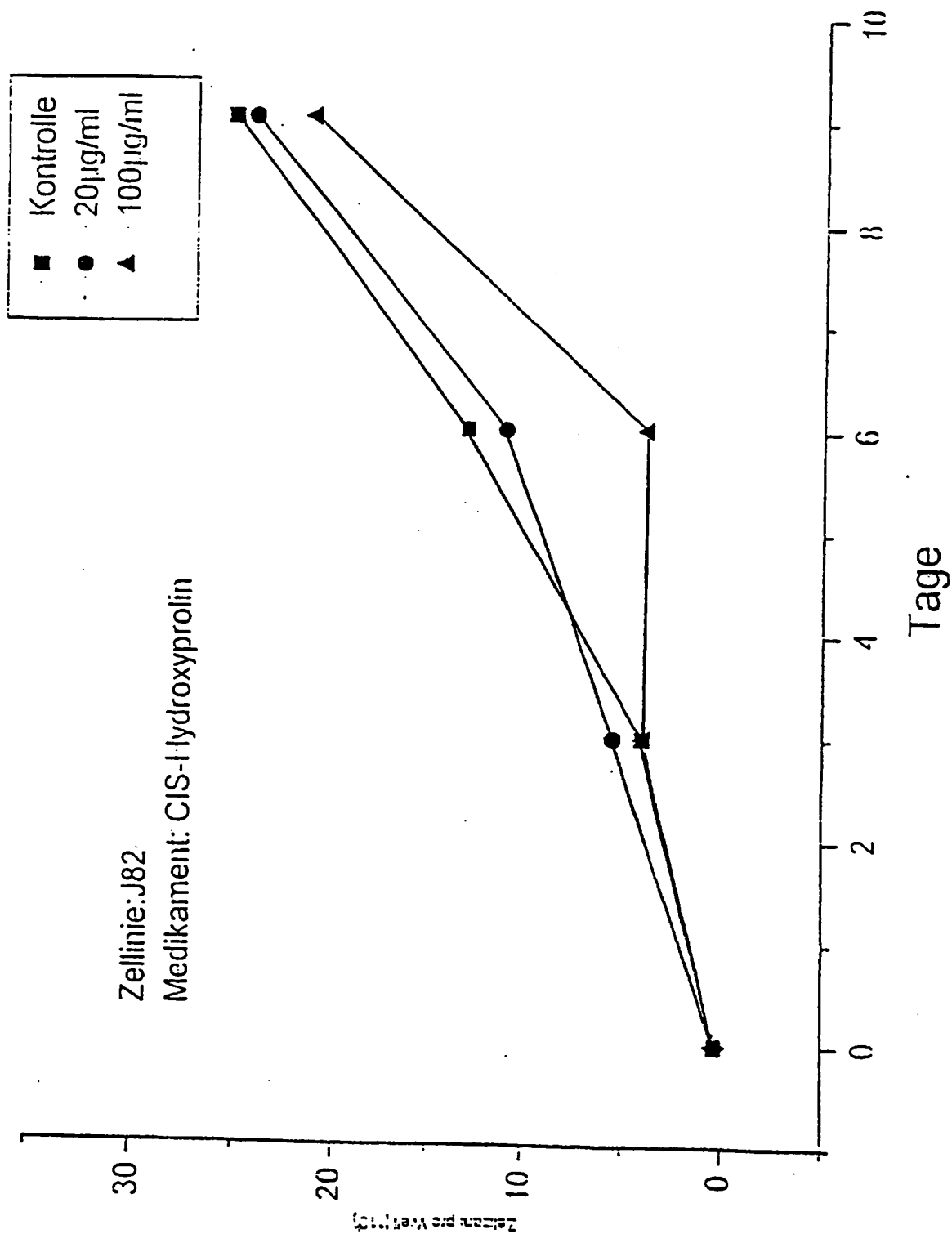


8 / 27

Fig. 8Entdifferenziertes
Harnblasenkarzinom

Zelllinie: J82

Medikament: CIS-Hydroxyprolin



9 / 27

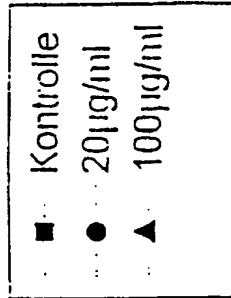


Fig. 9
Entdifferenziertes
Harnblasenkarzinom

Zelllinie: J82
Medikament: N-Methyl-CIS-4-L-Hyp.

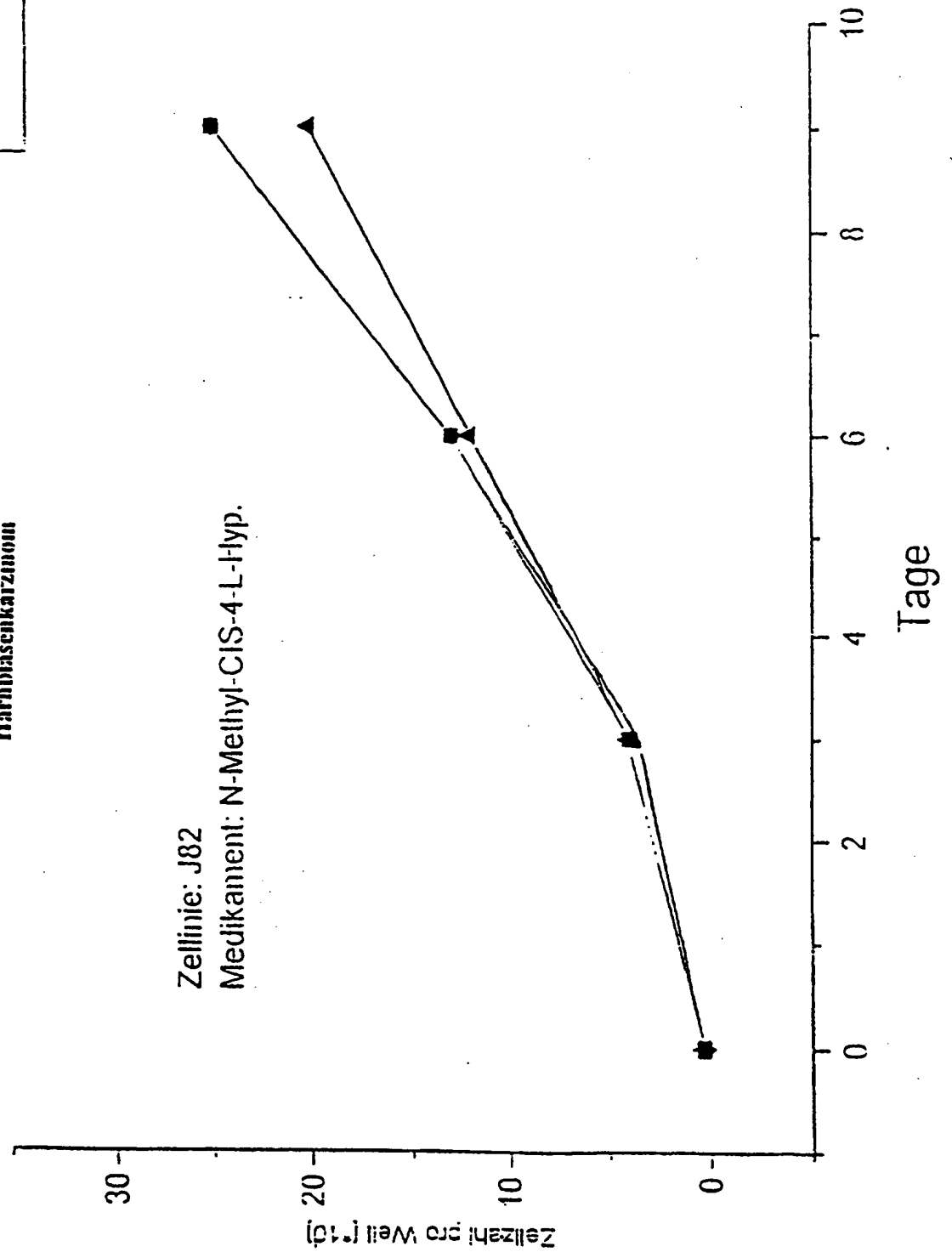
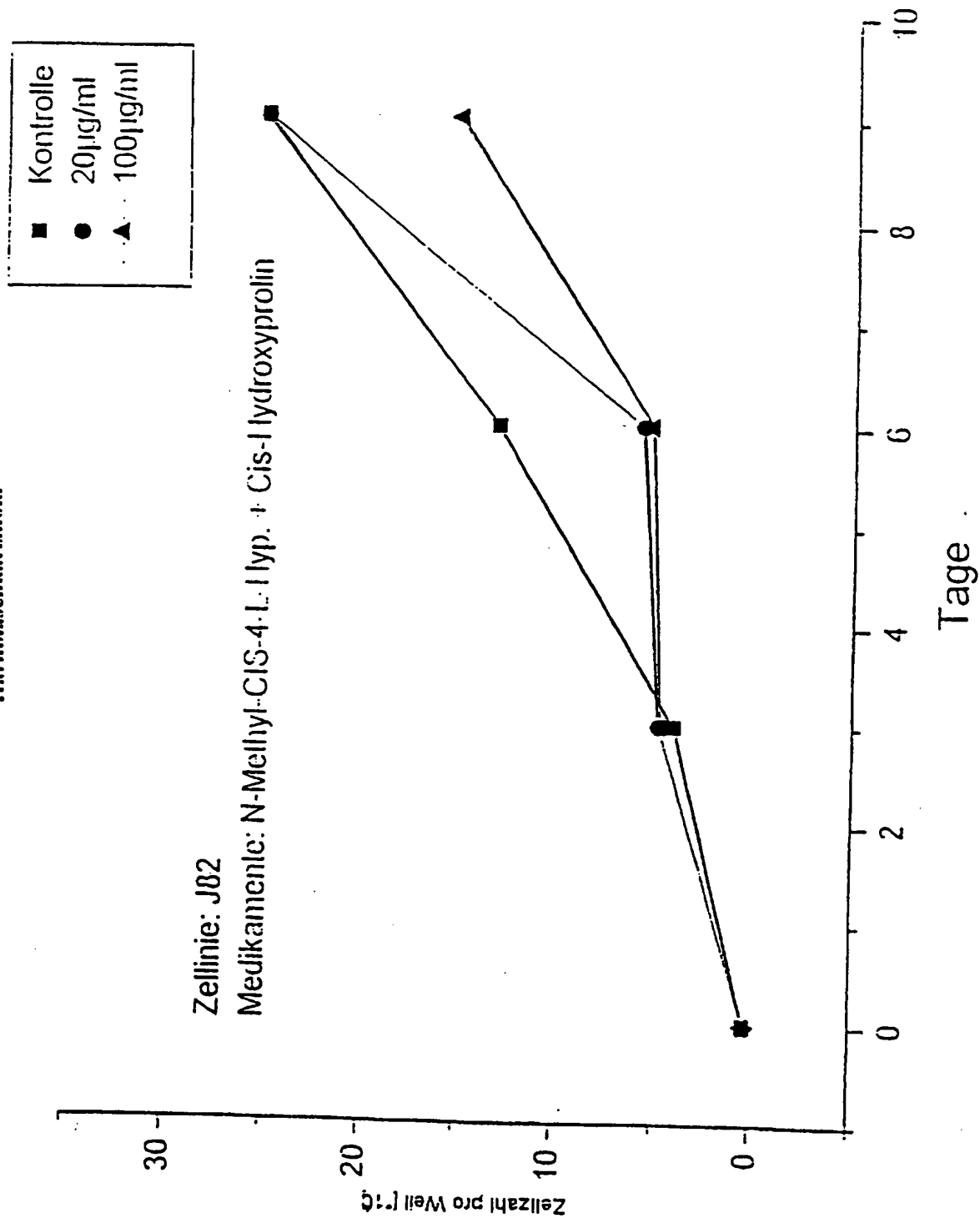


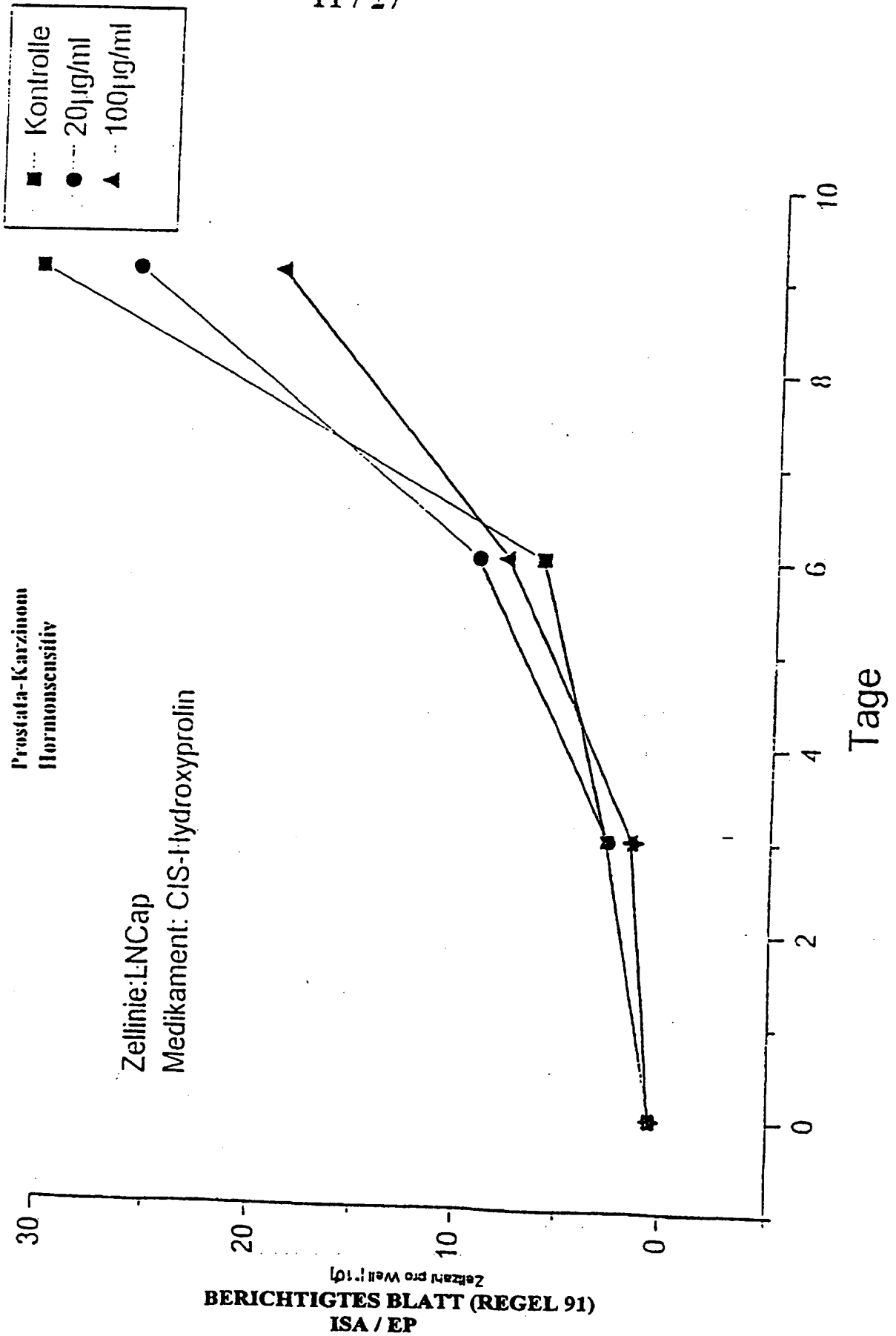
Fig. 10Entdifferenziertes
Harnblasenkarzinom

11 / 27

Fig. 11

Prostata-Karzinom
Hormonsensitiv

Zelllinie: LNCap
Medikament: CIS-Hydroxyprolin



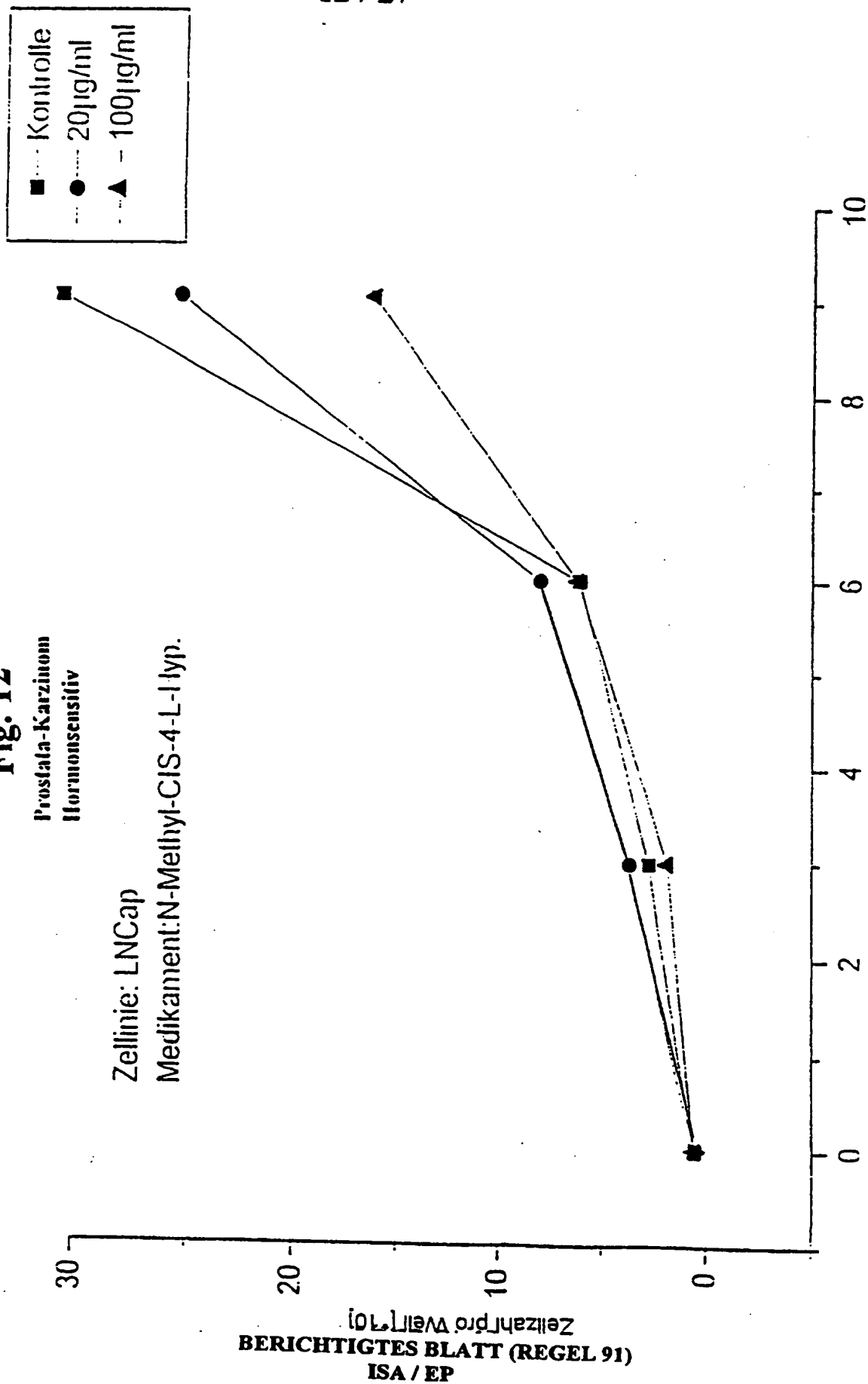
12 / 27

Fig. 12

Prostata-Karzinom
Hormonsensitiv

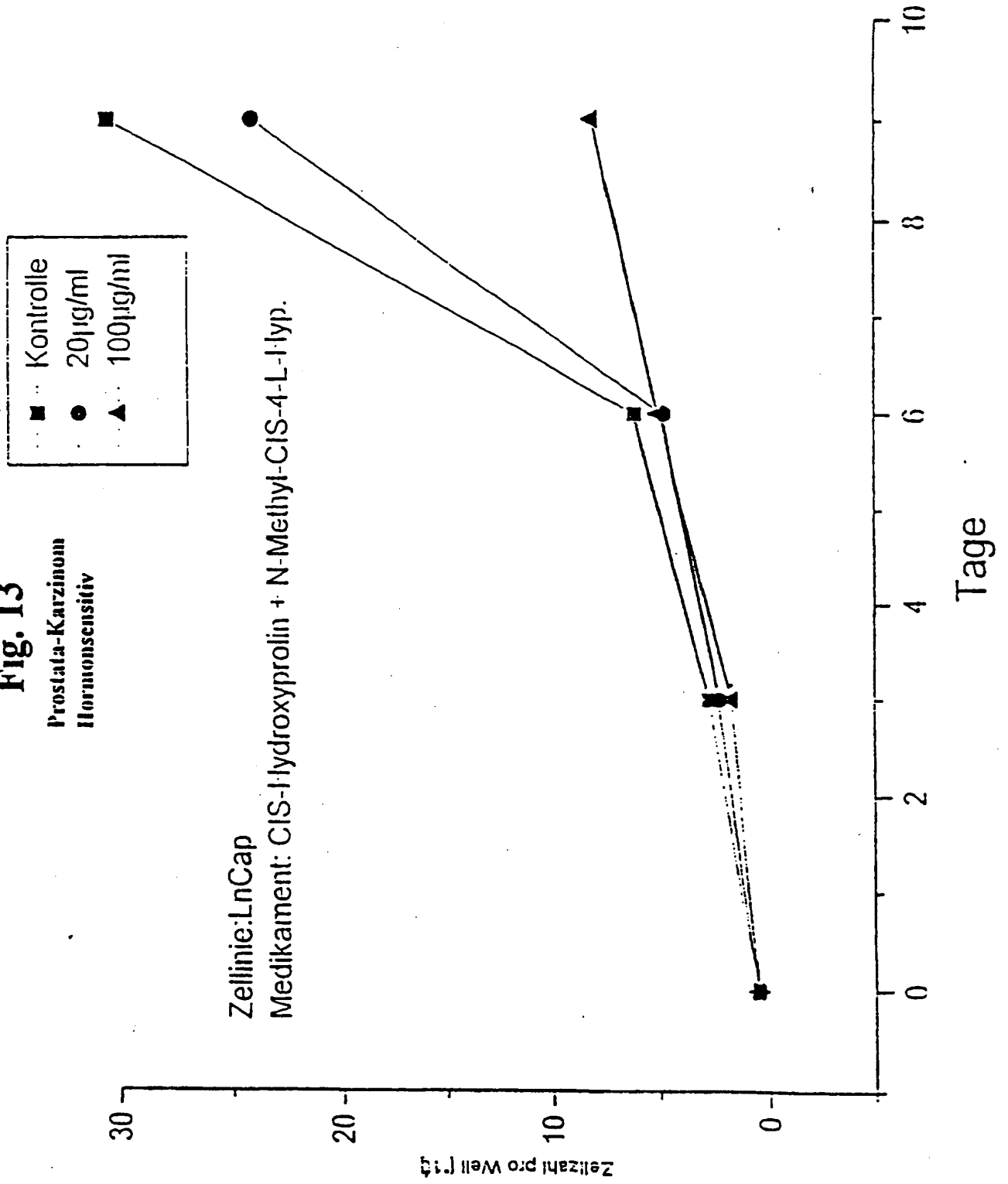
Zelllinie: LNCap

Medikament: N-Methyl-CIS-4-L-Typ.



13 / 27

Fig. 13
Prostata-Karzinom
Hormonsensitiv



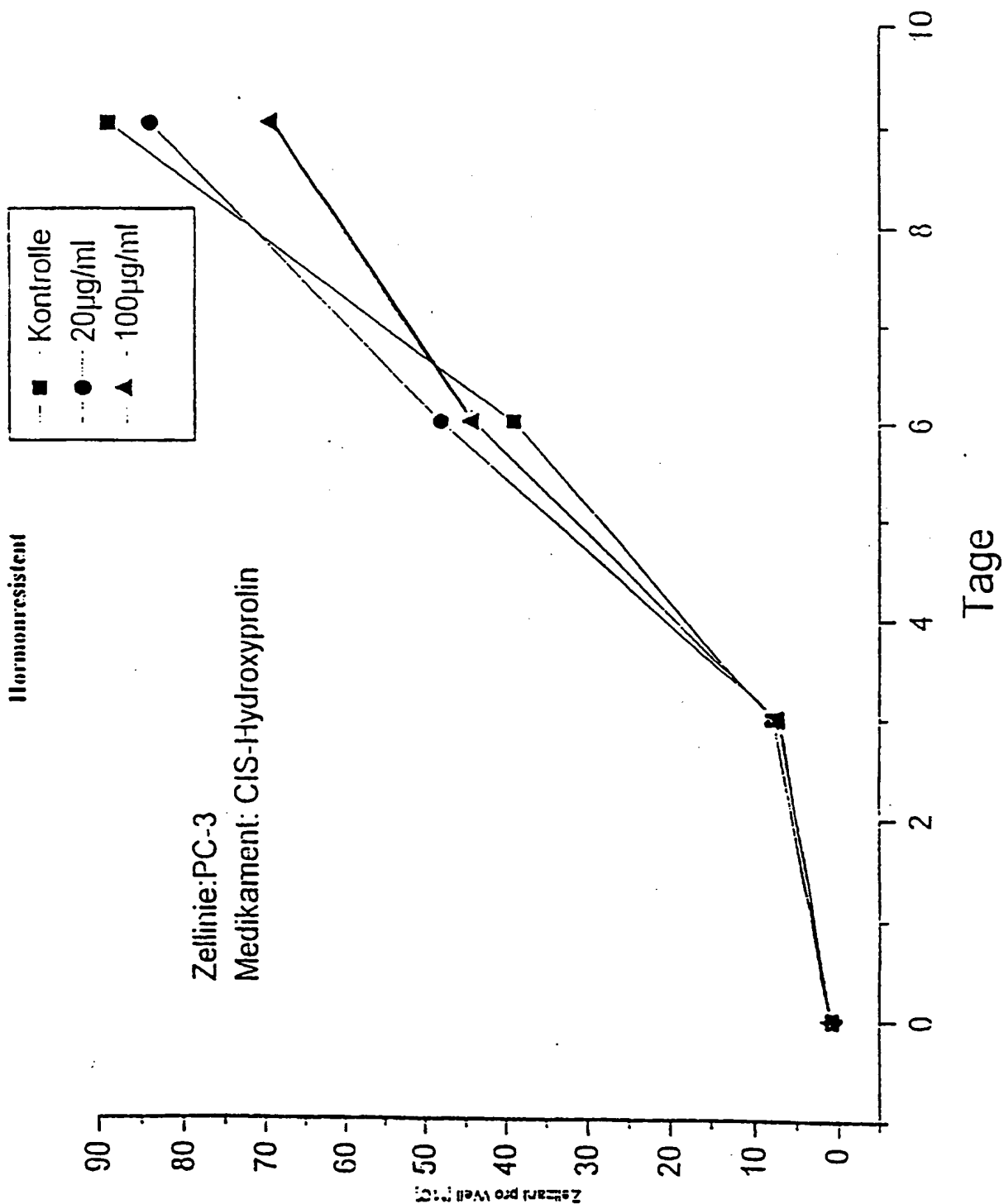
14 / 27

Fig. 14

Prostata-Karzinom
Hormonresistent

Zelllinie: PC-3

Medikament: CIS-Hydroxyprolin

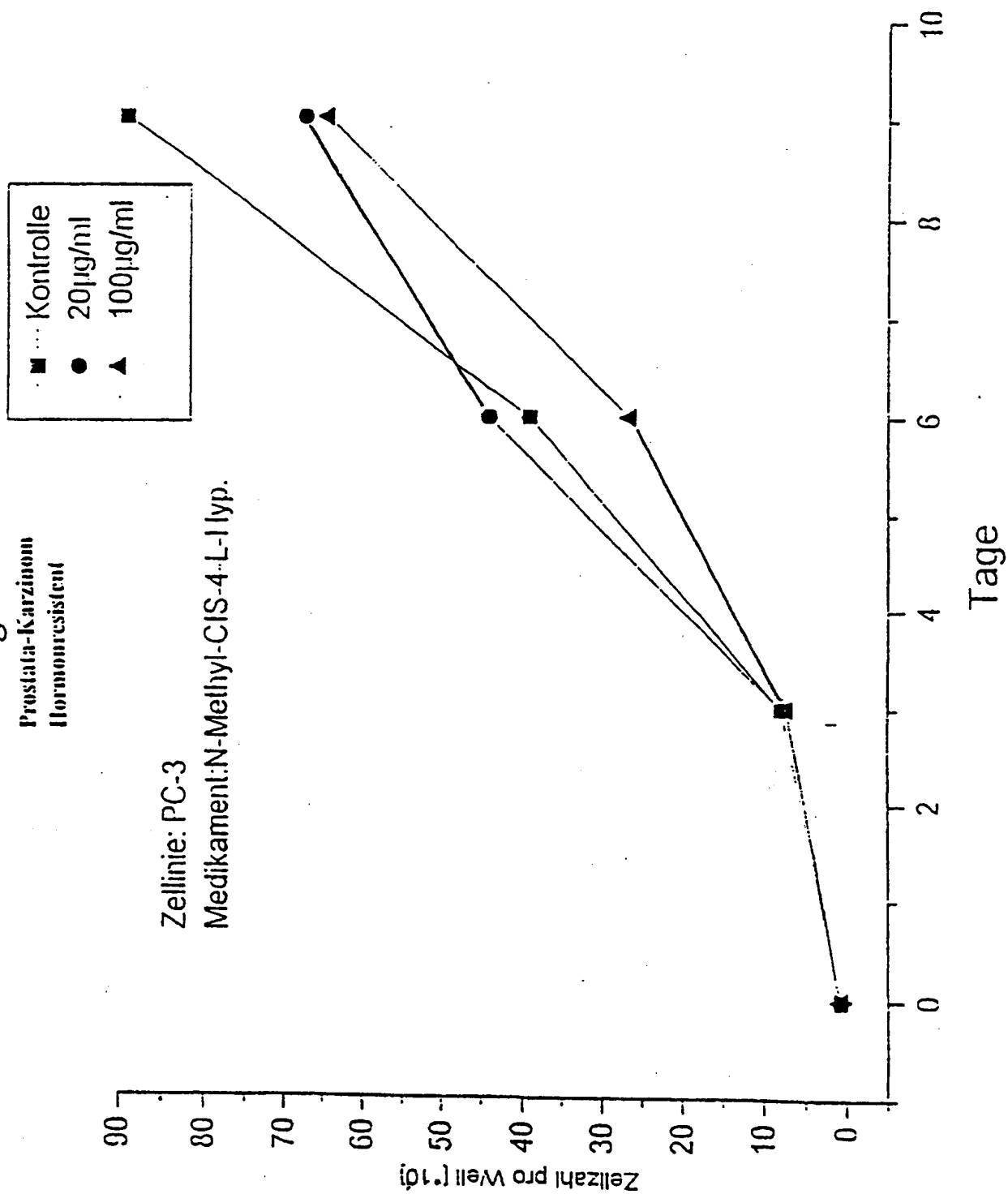


15 / 27

Fig. 15Prostata-Karzinom
Hormonresistent

Zelllinie: PC-3

Medikament: N-Methyl-CIS-4-L-Iyp.



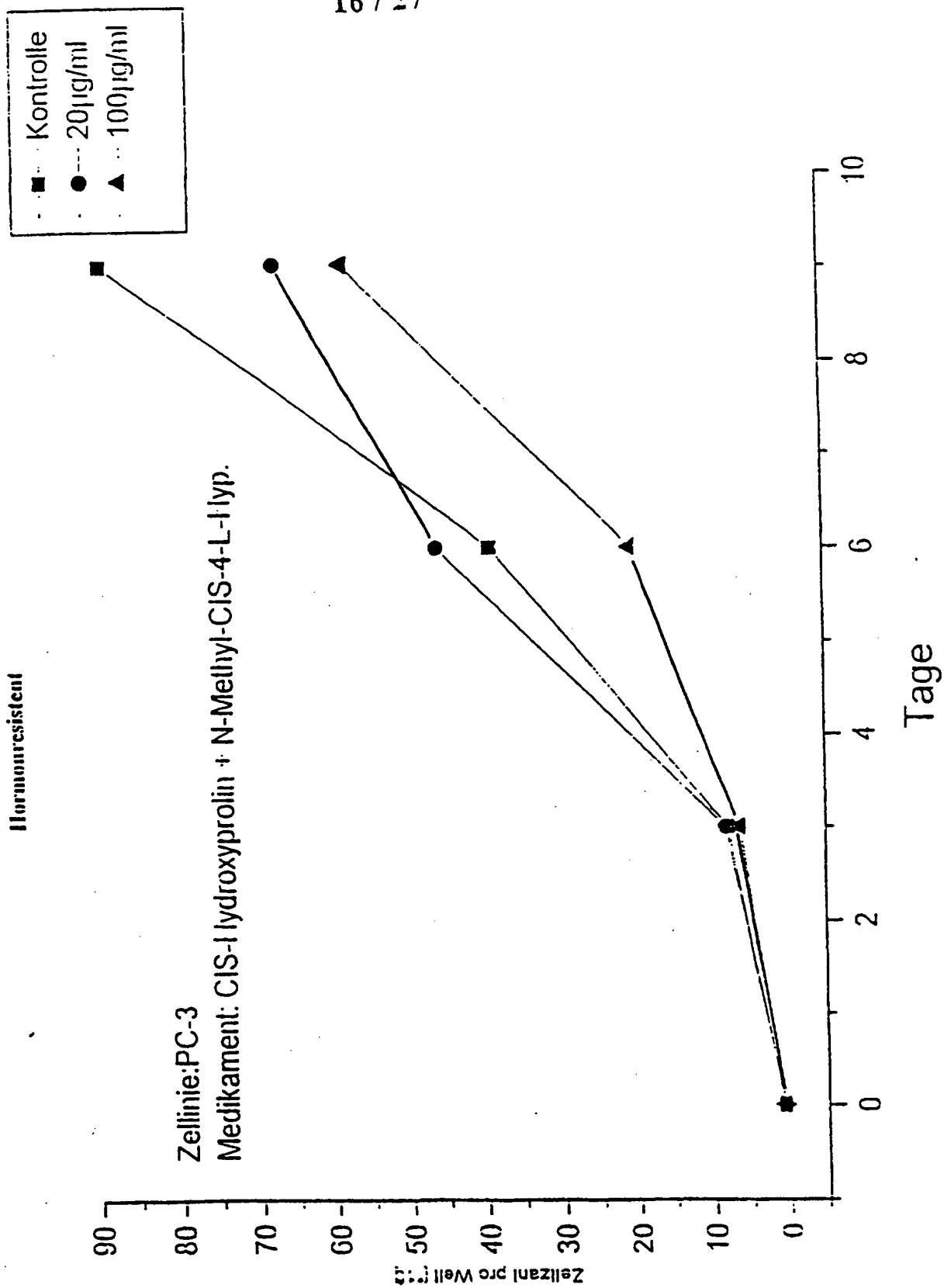
16 / 27

Fig. 16

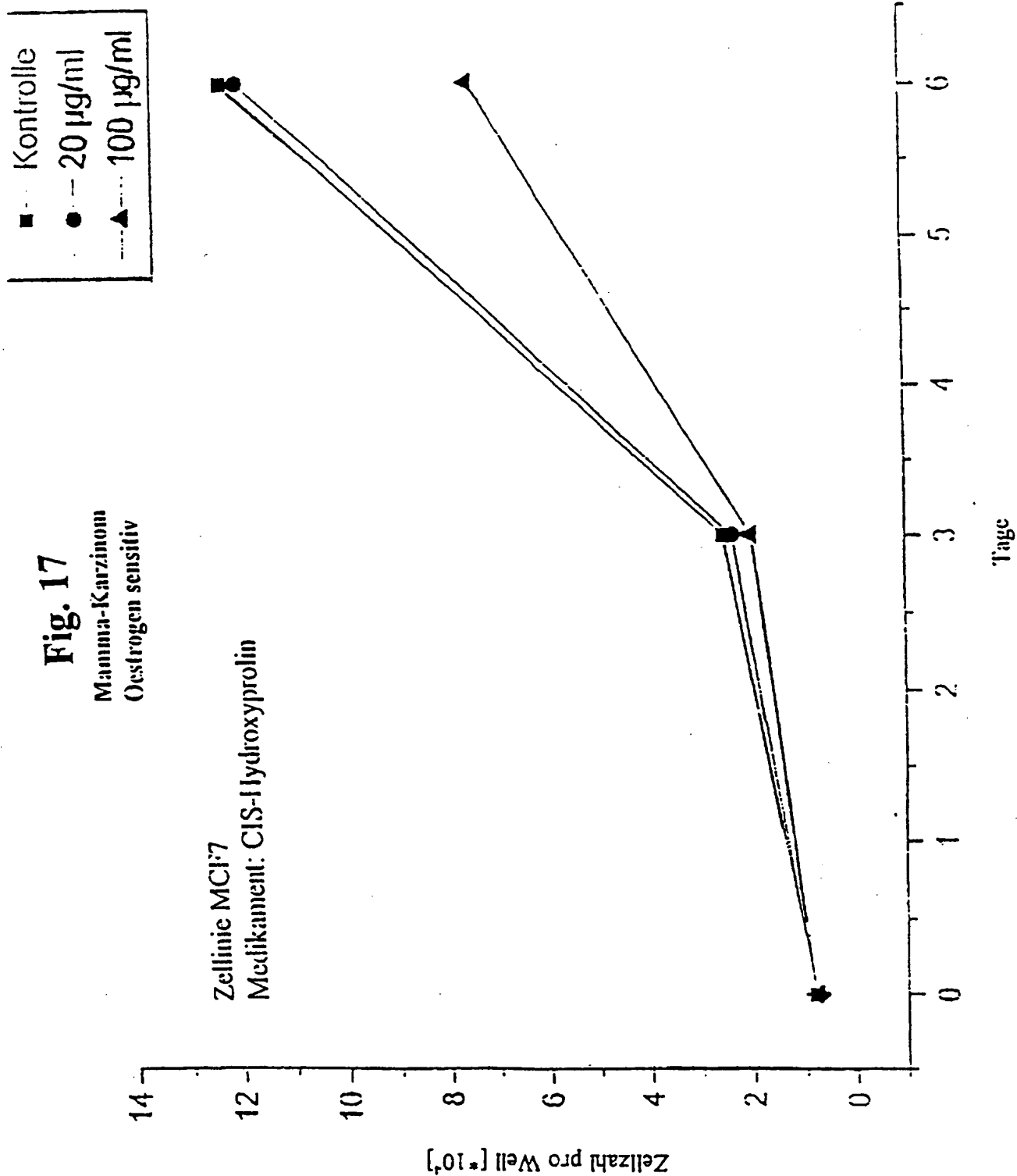
Prostata-Karzinom
Hormonresistent

Zelllinie: PC-3

Medikament: CIS-1-Hydroxyprolin + N-Methyl-CIS-4-L-Iyp.



17 / 27



18 / 27

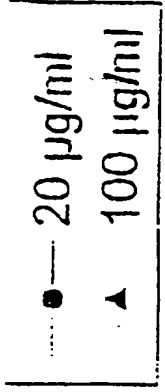
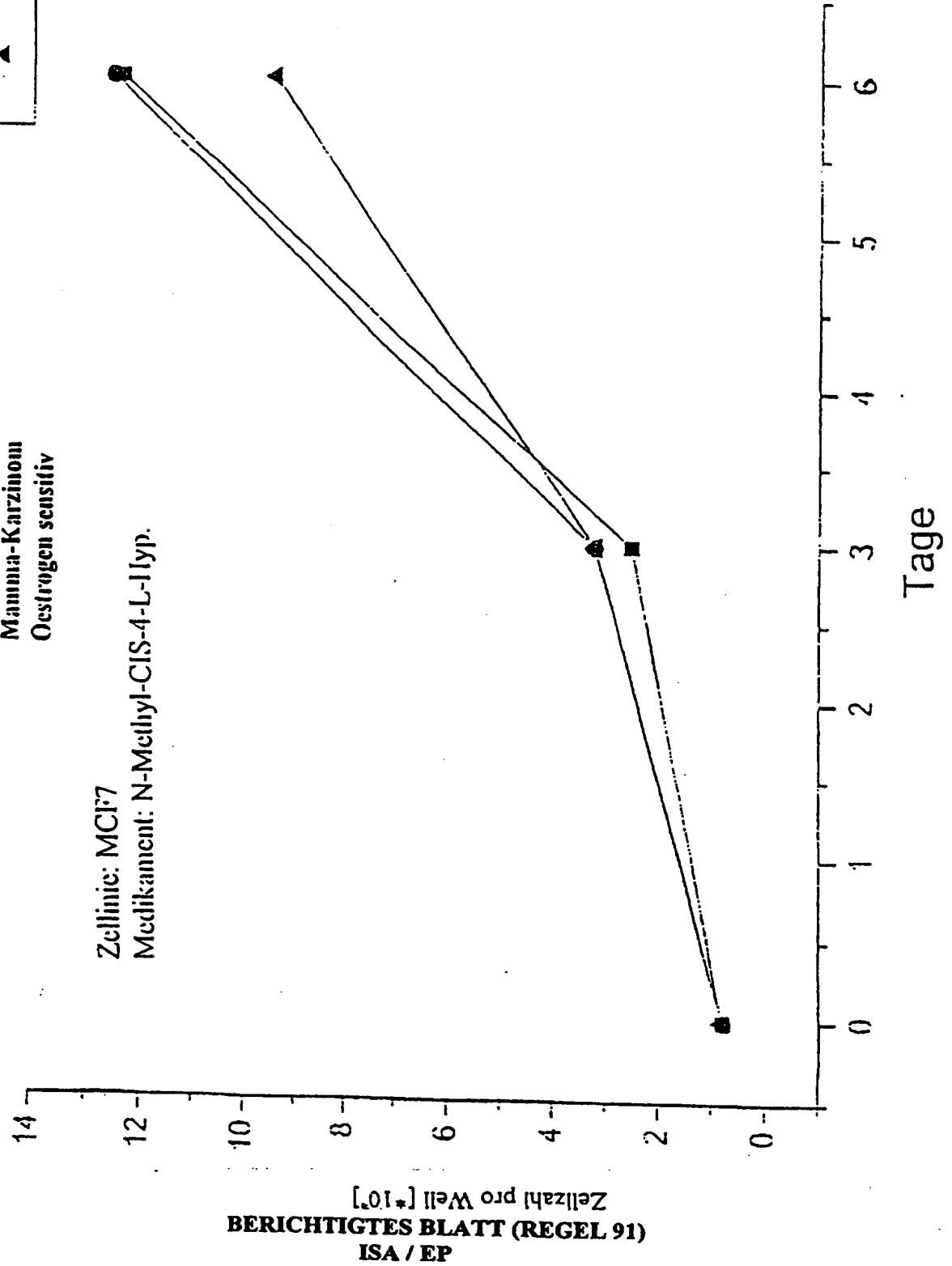
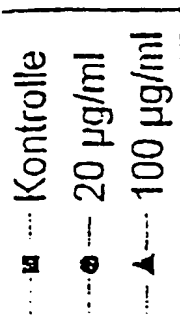
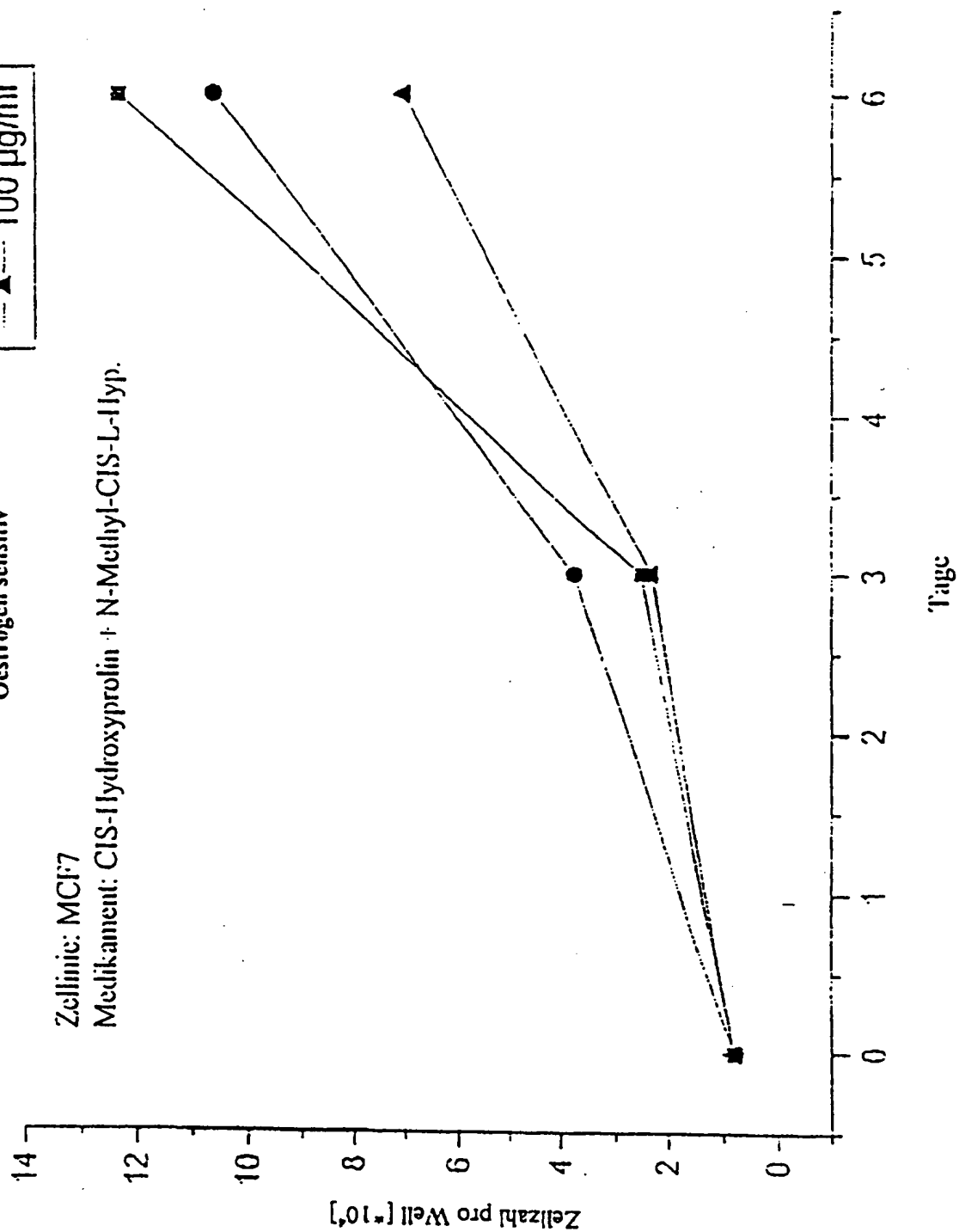


Fig. 18
Mamma-Karzinom
Oestrogen sensitiv

Zelllinie: MCF7
Medikament: N-Methyl-CIS-4-L-11yp.



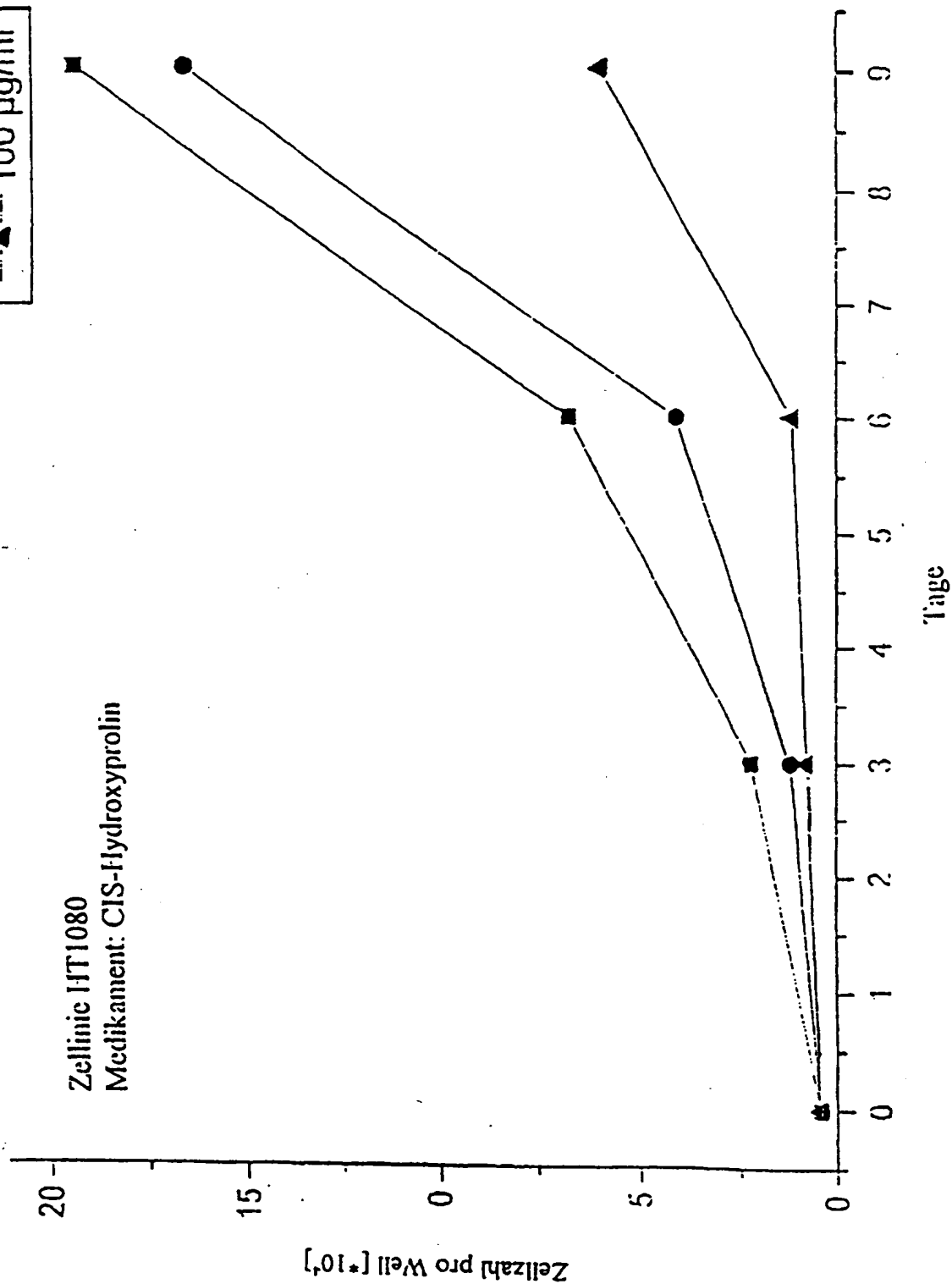
19 / 27

Fig. 19Mamma-Karzinom
Oestrogen sensitivZelllinie: MCF7
Medikament: CIS-Hydroxyprolin + N-Methyl-CIS-L-Hyp.

20 / 27

Fig. 20

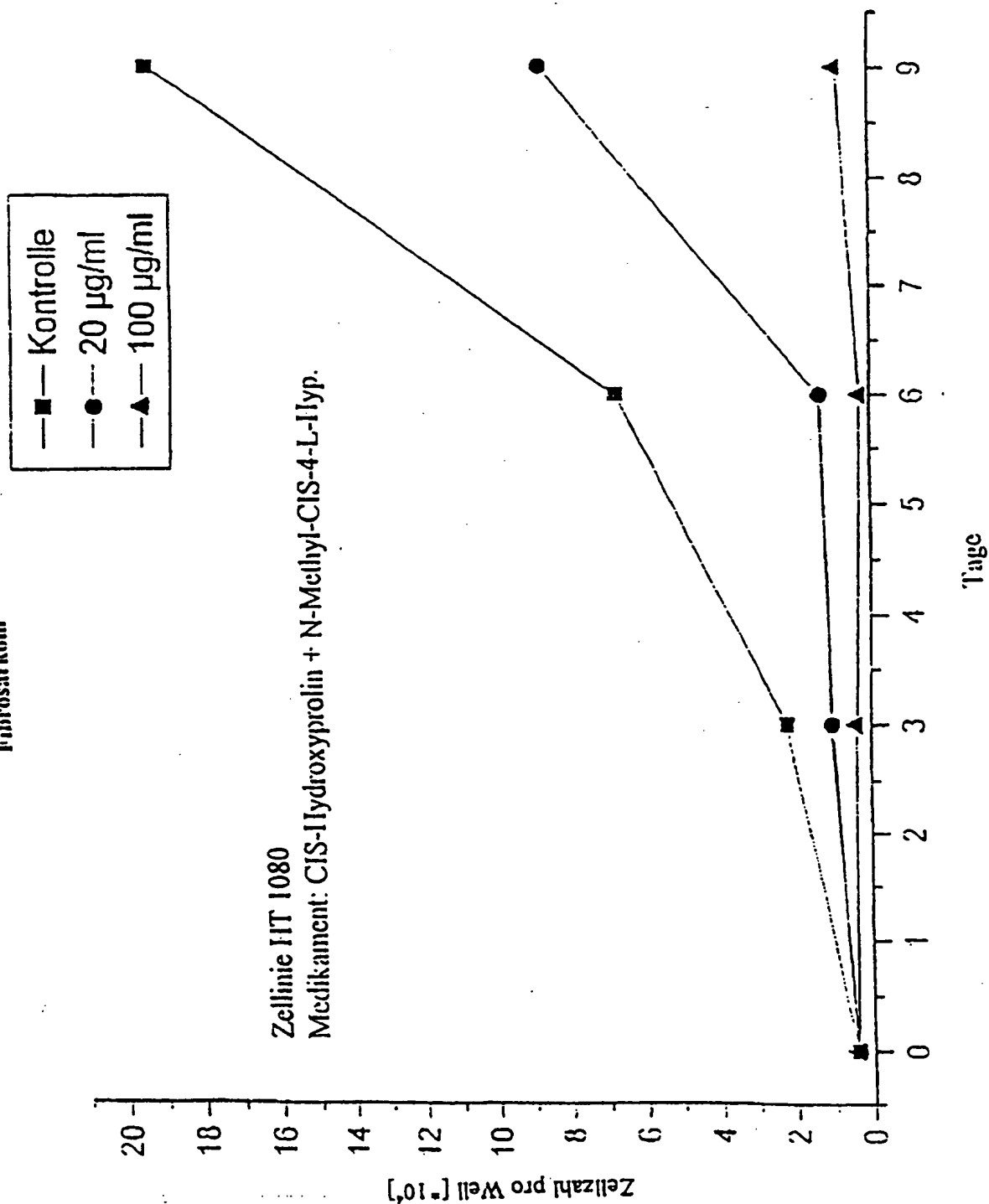
Fibrosarkom



21 / 27

Fig. 21

Fibrosarkom

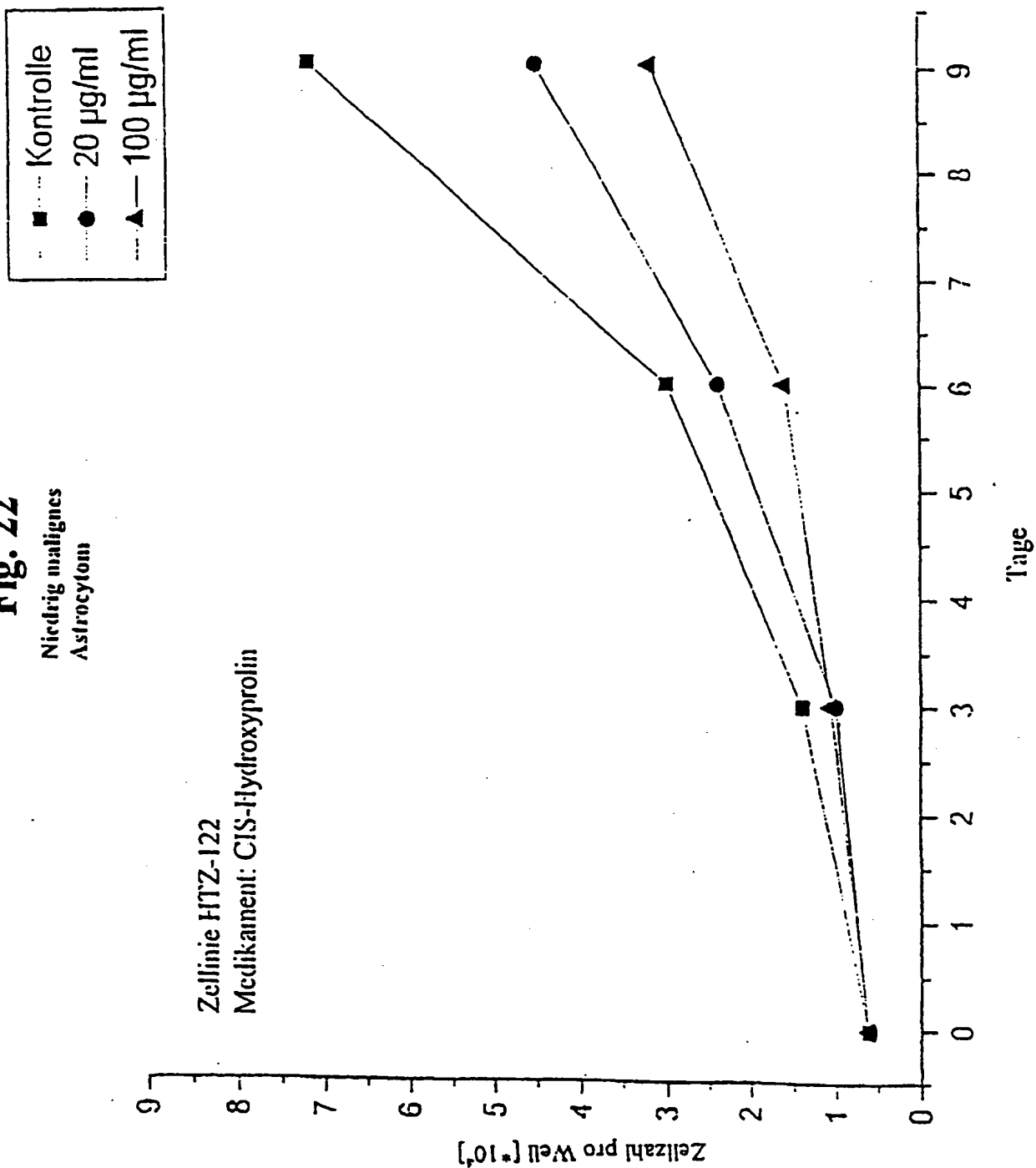


22 / 27

Fig. 22

Niedrig malignes
Astrocytom

Zelllinie HTZ-122
Medikament: CIS-Hydroxyprolin



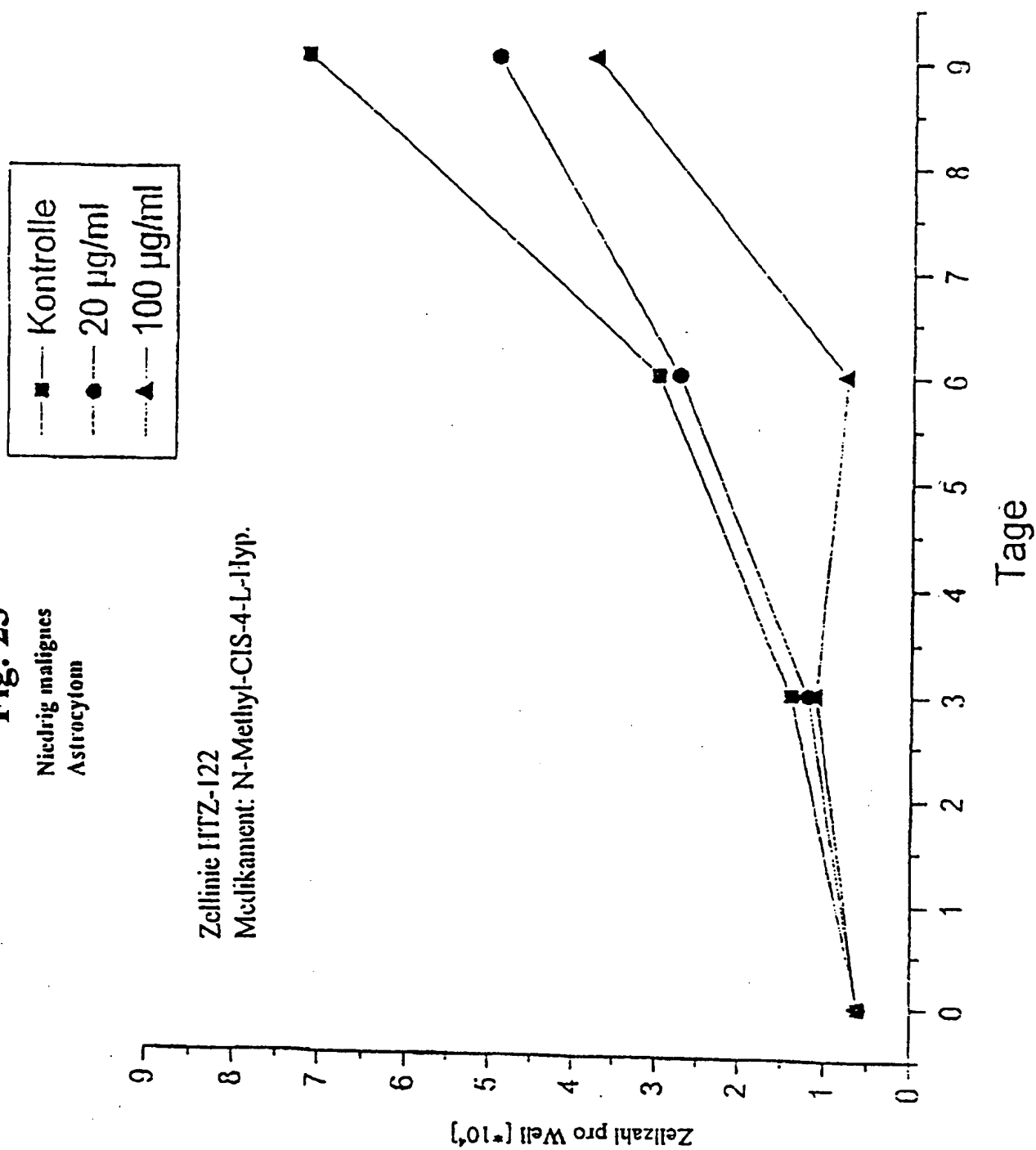
23 / 27

Fig. 23

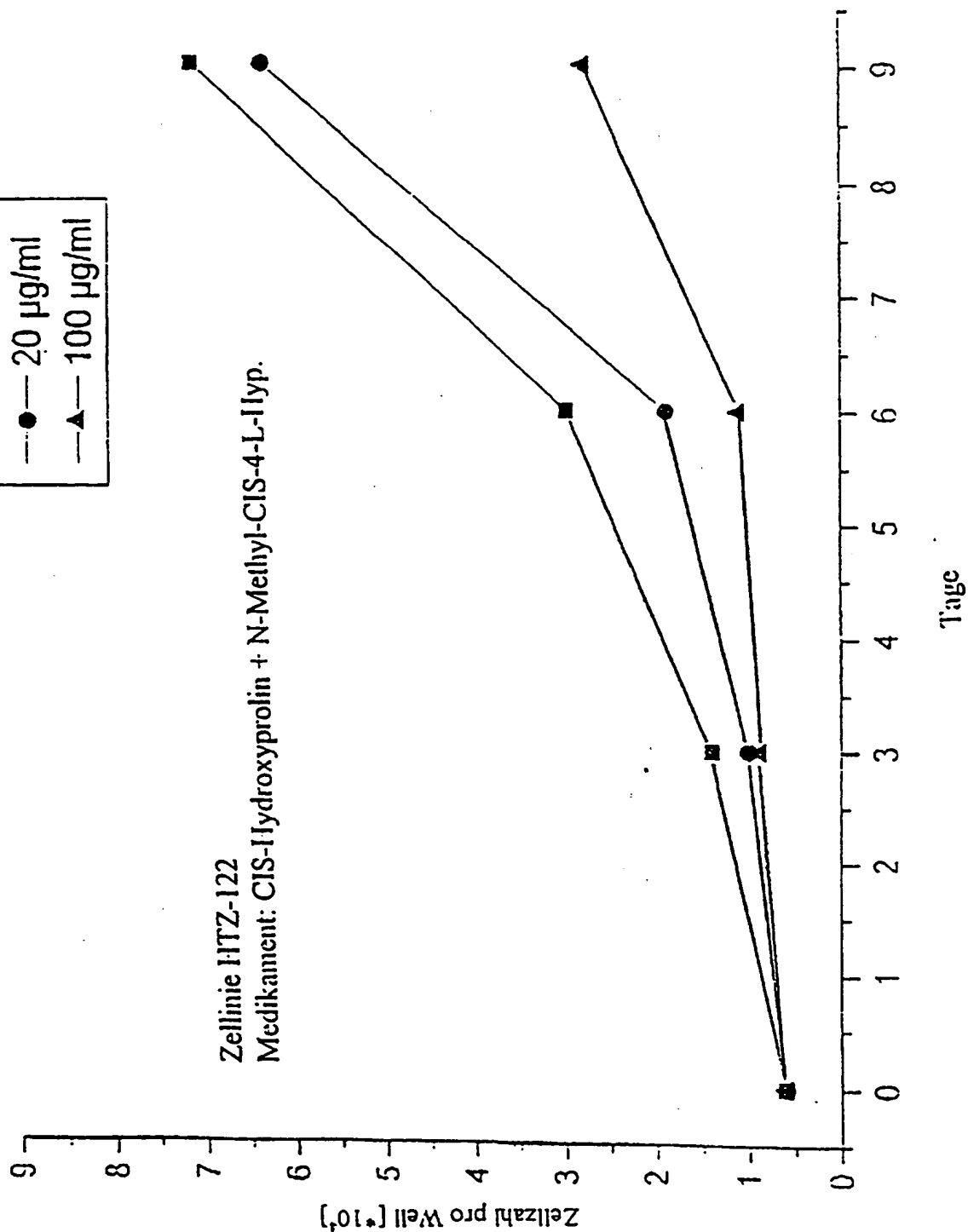
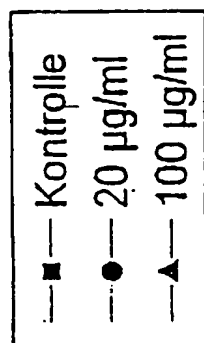
Niedrig malignes
Astrocytom

Zelllinie ITZ-122

Medikament: N-Methyl-CIS-4-L-Typ.



24 / 27

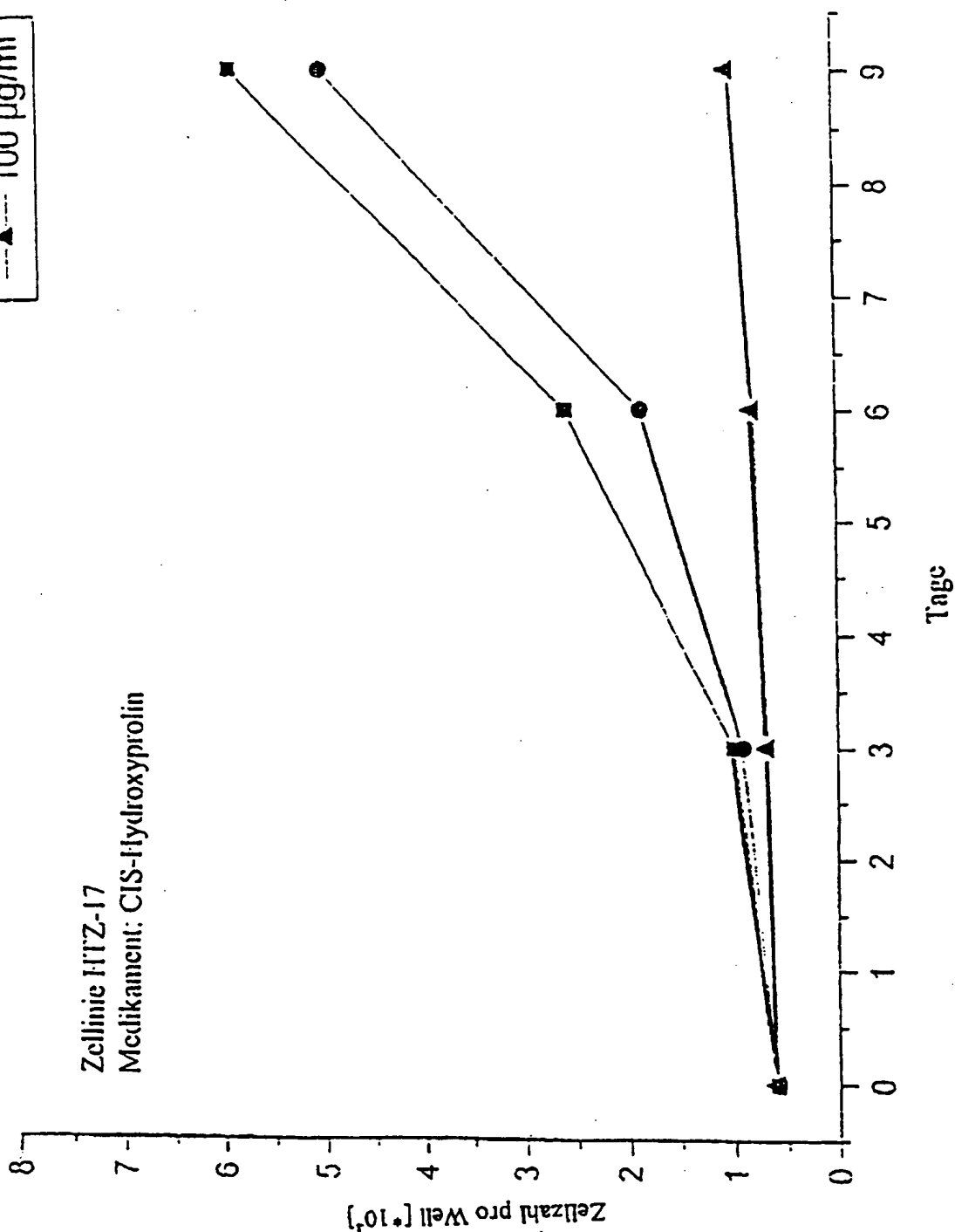
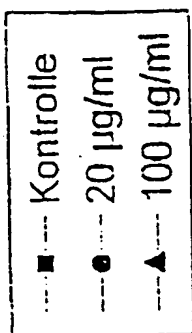
Fig. 24Niedrig malignes
Astrucytom

25 / 27

Fig. 25

Hochmalignes
Astroglom

Zelllinie HTZ-17
Medikament: CIS-Hydroxyprolin



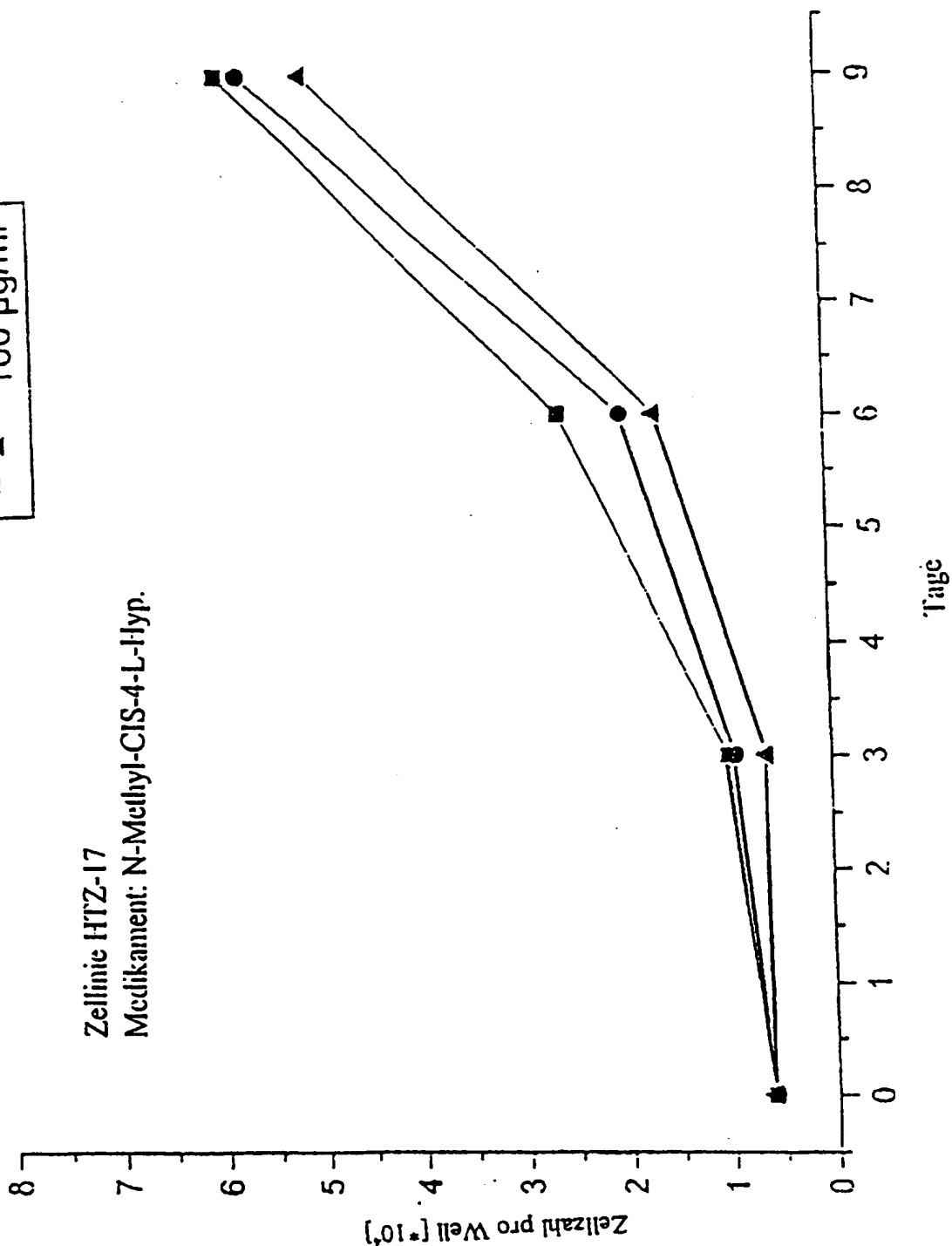
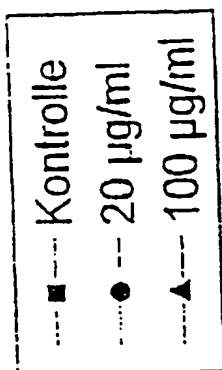
26 / 27

Fig. 26

Hochmalignes
Astrogliom

Zelllinie HTZ-17

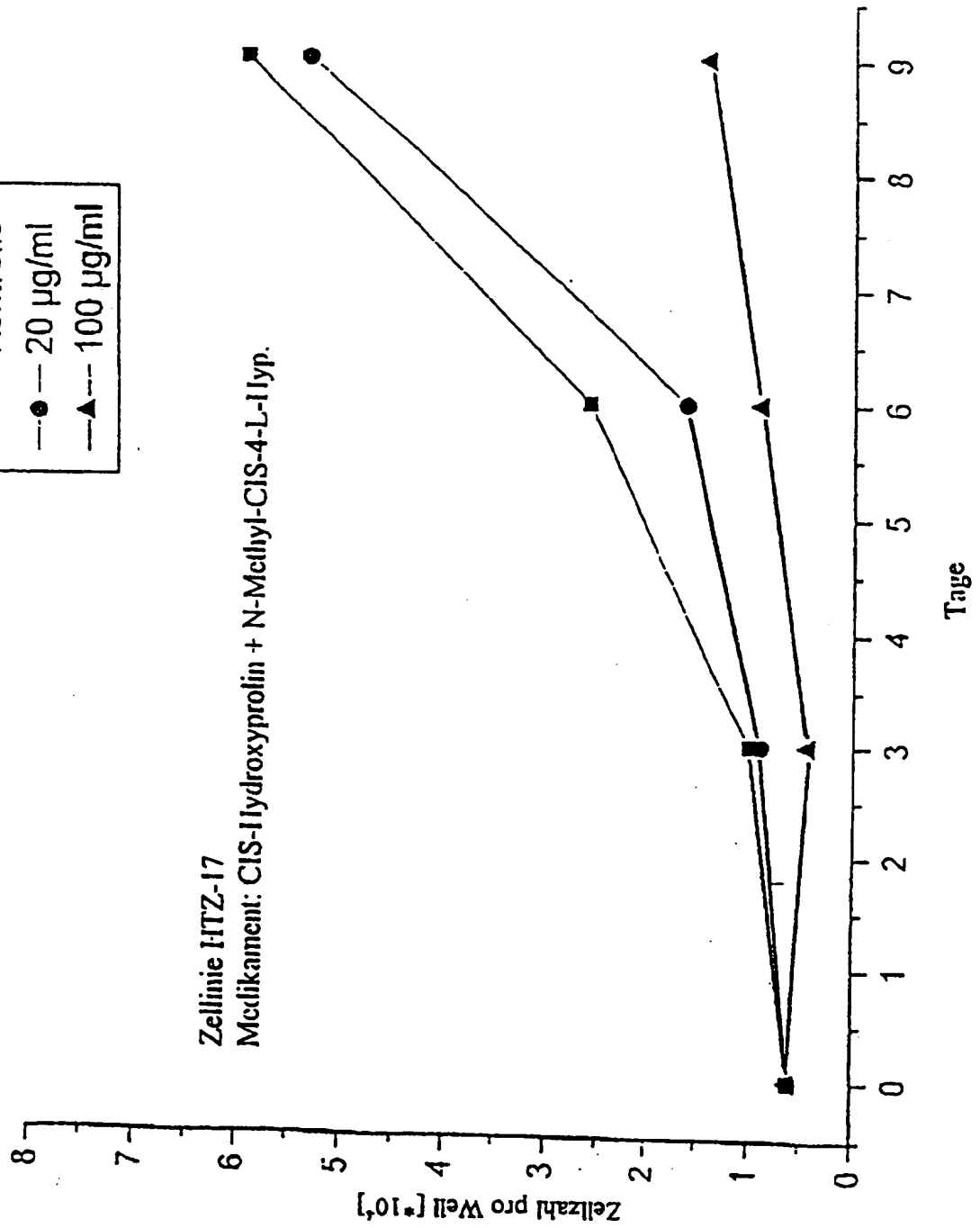
Medikament: N-Methyl-CIS-4-L-Hyp.



BERICHTIGTES BLATT (REGEL 91)
ISA/EP

27 / 27

Fig. 27
Hochmaligues
Astroglion



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No

PCT/DE 97/00486

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K31/40

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JOURNAL OF THE NATIONAL CANCER INSTITUTE , vol. 75, no. 2, 1985, pages 353-359, XP002038153	29
A	KLOHS ET AL: "COLLAGEN-PRODUCTION INHIBITORS EVALUATED AS ANTITUMOR AGENTS" see page 357; tables 1,4	1,4-11, 14-21
Y	--- BIOLOGY OF REPRODUCTION, vol. 33, no. 1, 1985, pages 213-227, XP002038154	29
A	THORNTON ET AL: "collagen and the proliferation and differentiation of rat ventral prostate epithelial cells" see page 213; figure 4 see page 216, right-hand column - page 217 --- -/-	21,23

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- * "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- * "E" earlier document but published on or after the international filing date
- * "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- * "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- * "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- * "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- * "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- * "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- * "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 August 1997

Date of mailing of the international search report

01.09.97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Kanbier, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 97/00486

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>CANCER RESEARCH, vol. 41, no. 7, 1981, pages 2855-2862, XP002038155 LEWKO ET AL: "SENSITIVITY OF N-NITROSOMETHYLUREA-INDUCED MAMMARY TUMORS TO CIS-HYDROXYPROLINE, AN INHIBITOR OF COLLAGEN PRODUCTION" see page 2858, left-hand column, paragraph 2 see page 2859, right-hand column - page 2860, left-hand column</p>	<p>1,4-11, 14,21, 25,29</p>
A	<p>DE 35 38 619 A (HOERRMANN W.) 7 May 1986 cited in the application see page 3; claim 3</p>	<p>29</p>
A	<p>WO 86 07053 A (HOERRMANN W.) 4 December 1986 cited in the application see page 1, paragraph 1; claims 8,11 see page 4, line 1</p>	<p>29</p>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Internal Application No

PCT/DE 97/00486

Patent document cited in search report	Publication date -	Patent family member(s)	Publication date
DE 3538619 A	07-05-86	CA 1281288 A	12-03-91
		CH 667591 A	31-10-88
		GB 2171302 A,B	28-08-86
		JP 7023309 B	15-03-95
		JP 61155324 A	15-07-86

WO 8607053 A	04-12-86	DE 3518078 A	20-11-86
		EP 0223850 A	03-06-87

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern ales Aktenzeichen

PCT/DE 97/00486

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 A61K31/40

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	JOURNAL OF THE NATIONAL CANCER INSTITUTE , Bd. 75, Nr. 2, 1985, Seiten 353-359, XP002038153 KLOHS ET AL: "COLLAGEN-PRODUCTION INHIBITORS EVALUATED AS ANTITUMOR AGENTS"	29
A	siehe Seite 357; Tabellen 1,4	1,4-11, 14-21
Y	BIOLOGY OF REPRODUCTION, Bd. 33, Nr. 1, 1985, Seiten 213-227, XP002038154 THORNTON ET AL: "collagen and the proliferation and differentiation of rat ventral prostate epithelial cells"	29
A	siehe Seite 213; Abbildung 4 siehe Seite 216, rechte Spalte - Seite 217 --- -/--	21,23

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

20. August 1997

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

01.09.97

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Kanbier, D

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen
PCT/DE 97/00486

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>CANCER RESEARCH, Bd. 41, Nr. 7, 1981, Seiten 2855-2862, XP002038155 LEWKO ET AL: "SENSITIVITY OF N-NITROSOMETHYLUREA-INDUCED MAMMARY TUMORS TO CIS-HYDROXYPROLINE, AN INHIBITOR OF COLLAGEN PRODUCTION" siehe Seite 2858, linke Spalte, Absatz 2 siehe Seite 2859, rechte Spalte - Seite 2860, linke Spalte</p> <p>---</p>	<p>1,4-11, 14,21, 25,29</p>
A	<p>DE 35 38 619 A (HOERRMANN W.) 7.Mai 1986 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 3; Anspruch 3</p> <p>---</p>	<p>29</p>
A	<p>WO 86 07053 A (HOERRMANN W.) 4.Dezember 1986 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 1, Absatz 1; Ansprüche 8,11 siehe Seite 4, Zeile 1</p> <p>-----</p>	<p>29</p>

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Inter. nales Aktenzeichen

PCT/DE 97/00486

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 3538619 A	07-05-86	CA 1281288 A	12-03-91
		CH 667591 A	31-10-88
		GB 2171302 A,B	28-08-86
		JP 7023309 B	15-03-95
		JP 61155324 A	15-07-86

WO 8607053 A	04-12-86	DE 3518078 A	20-11-86
		EP 0223850 A	03-06-87

THIS PAGE BLANK (USPTO)